

筑波大学

博士（医学）学位論文

DB  
1223  
1996  
(HG)

小児気管支喘息の成因におけるアレルギーの役割に関する研究

1996

竹田一則

寄	贈
竹田一則氏	平成 年 月 日

99012274

# 目 次

要 旨 .....	1
緒 言 .....	4
第 I 章 文献的考察 .....	5
I-1 気管支喘息の概念の歴史 .....	5
I-2 気管支喘息の定義と分類 .....	14
I-3 気管支喘息の病態生理 .....	17
I-3-1 気管支喘息の病理 .....	17
I-3-2 アレルギー反応 .....	18
I-3-3 気道炎症と気道過敏性 .....	19
I-3-4 神経因子とニューロペプチド .....	20
I-3-5 T細胞とサイトカイン .....	22
I-3-6 接着分子と組織構成細胞の役割 .....	22
I-4 本研究の目的 .....	24
第 II 章 小児気管支喘息におけるダニ特異IgE抗体の病因的役割 .....	25
II-1 目的 .....	25
II-2 対象および方法 .....	25
II-2-1 対象 .....	25
II-2-2 気管支喘息の診断 .....	25
II-2-3 ダニ特異IgE抗体の測定 .....	26
II-2-4 統計分析 .....	27
II-3 結果 .....	27
II-3-1 気管支喘息患者と非喘息者におけるダニ特異抗体値の比較 .....	27
II-3-2 ダニ特異抗体値と気管支喘息の有病率との関係 .....	27
II-4 考案 .....	28
II-5 小括 .....	29
第 III 章 小児気管支喘息におけるダニ特異IgE抗体値と気道反応性との関係 .....	34
III-1 目的 .....	34
III-2 対象および方法 .....	34
III-2-1 対象 .....	34
III-2-2 ダニ特異IgE抗体および血清IgEの測定 .....	35

Ⅲ-2-3	メサコリン 吸入試験 .....	35
Ⅲ-2-4	統計分析 .....	35
Ⅲ-3	結果 .....	35
Ⅲ-3-1	気管支喘息児と健常児のダニ特異IgE抗体値、血清IgE値および気道反応性の比較 .....	36
Ⅲ-3-2	気管支喘息児におけるダニ特異IgE抗体値ならびに血清IgE値と気道反応性との関係 ...	36
Ⅲ-4	考案 .....	36
Ⅲ-5	小括 .....	38

#### 第Ⅳ章 ダニアレルギーのある喘息児と非喘息児およびアレルギーのない健常児における 好塩基球ヒスタミン遊離能、末梢血好酸球数、血清ECP、血清MBPと気道

	反応性との関係 .....	43
Ⅳ-1	目的 .....	43
Ⅳ-2	対象および方法 .....	43
Ⅳ-2-1	対象 .....	43
Ⅳ-2-2	ダニ特異IgE抗体および血清IgEの測定 .....	44
Ⅳ-2-3	ダニ抗原刺激による好塩基球ヒスタミン遊離能の測定 .....	44
Ⅳ-2-4	末梢血好酸球数の測定 .....	45
Ⅳ-2-5	血清ECPの測定 .....	45
Ⅳ-2-6	血清MBPの測定 .....	46
Ⅳ-2-7	メサコリン 吸入試験 .....	47
Ⅳ-2-8	統計分析 .....	47
Ⅳ-3	結果 .....	47
Ⅳ-3-1	ダニ特異IgE抗体値・血清IgE値と呼吸機能 .....	47
Ⅳ-3-2	ダニ抗原刺激による好塩基球ヒスタミン遊離能の3群間の比較 .....	47
Ⅳ-3-3	末梢血好酸球、血清ECP値および血清MBP値 .....	48
Ⅳ-3-4	気道反応性 .....	48
Ⅳ-3-5	ダニアレルギーのある気管支喘息児と非喘息児および健常児における好酸球性炎症の 指標と気道反応性 .....	49
Ⅳ-4	考案 .....	49
Ⅳ-5	小括 .....	52

#### 第Ⅴ章 結論 .....

63

#### 第Ⅵ章 引用文献 .....

65

## 図表目次

### 第Ⅱ章

1. 表2-1 気管支喘息患者と非喘息者におけるダニ特異IgE抗体値 ..... 30
2. 図2-1 一般学童722名におけるダニ特異IgE抗体値の分布 ..... 31
3. 図2-2 ダニ特異IgE抗体値別にみた気管支喘息の有病率 ..... 32
4. 表2-2 気管支喘息患者と非喘息者のダニ特異IgE抗体値 ..... 33

### 第Ⅲ章

5. 図3-1 47名の喘息児と16名の健常児におけるダニ特異IgE抗体値、血清IgE値およびPC<sub>20</sub> ..... 39
6. 図3-2 ダニ特異IgE抗体値とPC<sub>20</sub>との関係 ..... 40
7. 図3-3 血清IgE値とPC<sub>20</sub>との関係 ..... 41
8. 図3-4 ダニ特異IgE抗体値と血清IgE値との関係 ..... 42

### 第Ⅳ章

9. 表4-1 ダニアレルギーのある喘息患者と非喘息者および健常者の3群におけるアレルギーと呼吸機能 ..... 53
10. 図4-1 3群の好塩基球からのヒスタミン遊離能 ..... 54
11. 図4-2 3群の末梢血好酸球数の比較 ..... 55
12. 図4-3 3群の血清ECP値 ..... 56
13. 図4-4 3群の血清MBP値 ..... 57
14. 図4-5 3群のメサコリンに対する気道反応性 (PC<sub>20</sub>) ..... 58
15. 図4-6 I群におけるメサコリンに対する気道反応性と末梢血好酸球数および血清ECP値との関係 ..... 59
16. 図4-7 I群における血清MBP値とPC<sub>20</sub>の関係 ..... 60
17. 図4-8 II群におけるメサコリンに対する気道反応性と末梢血好酸球数および血清ECP値 ..... 61
18. 図4-9 II群における血清MBP値とPC<sub>20</sub>の関係 ..... 62

## 略語一覽

ACP	allergen-coupled particles
APC	antigen presenting cells
ATS-DLD	American Thoracic Society-National Heart and Lung Institute, Division of Lung Diseases
BAL	bronchoalveolar lavage
BALF	bronchoalveolar lavage fluid
BHR	bronchial hyperresponsiveness
BSA	bovine serum albumin
CGRP	calcitonin-gene related peptide
<i>Df</i>	<i>Dermatophagoides farinae</i>
ECF-A	eosinophil chemotactic factor of anaphylaxis
ECP	eosinophil cationic protein
e-NANC	excitatory-NANC
FEV <sub>1.0</sub>	forced expiratory volume in one second
FEV <sub>1.0</sub> %	FEV <sub>1.0</sub> /FVC
FVC	forced vital capacity
GM-CSF	granulocyte-macrophage colony stimulating factor
HLA	human leukocyte antigen
HR <sub>50</sub>	antigen concentration causing a 50% histamine release from basophils
HSA	human serum albumin
IAR	immediate asthmatic response
ICAM-1	intracellular adhesion molecule-1
IL	interleukin
i-NANC	inhibitory-NANC
LAR	late asthmatic response
LFA-1	lymphocyte function-associated antigen 1
LT	leukotriene
MBP	major basic protein
MHC	major histocompatibility complex
MMF	maximal midexpiratory flow rate
NANC	nonadrenergic noncholinergic (nervous system)
NCF	neutrophil chemotactic factor
NEP	neutral endopeptidase
NIH	National Institute of Health
NK	neurokinin
NO	nitric oxide

PAF	platelet-activating factor
pLAR	post-late asthmatic response
PC <sub>20</sub>	provocative concentration of methacholine producing a 20% fall in FEV <sub>1.0</sub>
PD <sub>20</sub>	provocative dose of methacholine producing a 20% fall in FEV <sub>1.0</sub>
PFR	peak expiratory flow rate
RANTES	regulated upon activation, normal T cell expressed and presumably secreted
RAST	radioallergosorbent test
RFLP	restriction fragment length polymorphism
RIA	radioimmunoassay
rpm	revolutions per minute
SAR	seasonal allergic rhinitis
SP	Substance P
SRS-A	slow reacting substance of anaphylaxis
Th cell	T helper cell
$\dot{V}_{50}$	maximal expiratory flow rate 50%
$\dot{V}_{25}$	maximal expiratory flow rate 25%
VCAM-1	vascular cell adhesion molecule-1
VIP	vasoactive intestinal peptide
VLA-4	very late antigen-4

## 要 旨

### 〔目 的〕

気管支喘息は気道過敏性に特徴づけられる疾患で、特に小児では室内塵ダニアレルギー反応が発症に関与していると考えられている。しかし、強いダニアレルギーがありながら気管支喘息を発症しない例や、アレルギーが全く無いにもかかわらず気管支喘息を発症する例もあり、ダニアレルギーの役割についてはまだ十分に解明されていない。近年、気道組織の好酸球性炎症が、気管支喘息の病態に大きく関与していることが明らかにされつつあり、小児気管支喘息においても気道炎症は極めて重要な役割を担っているものと考えられる。

本研究の目的は、小児気管支喘息の成因におけるダニアレルギーの役割を明らかにすることにある。便宜上、3つの課題に分けて研究を行ったが、それぞれの研究目的を示すと以下のとおりである。

研究 1. 小児気管支喘息におけるダニ特異IgE抗体の病因的役割。ここでは、小児気管支喘息におけるダニアレルギーの病因的役割を明らかにするため、室内塵ダニに対する特異IgE抗体の分布を学童一般集団で調べ、ダニ特異IgE抗体値と気管支喘息の有病率との関係について検討した（第Ⅱ章）。

研究 2. 小児気管支喘息におけるダニ特異IgE抗体値と気道反応性との関係。この研究では、ダニアレルギーのある気管支喘息患児における気道過敏性の程度とダニ特異IgE抗体量との関係を明らかにした（第Ⅲ章）。

研究 3. ダニアレルギーのある喘息児と非喘息児およびアレルギーのない健常児における好塩基球ヒスタミン遊離能、末梢血好酸球数、血清ECP、血清MBPと気道反応性との関係。ここではアレルギー性喘息の病態生理学的な発症機序、特にケミカルメディエーターや好酸球性炎症などのアレルギー以外の因子の役割をより明らかにした（第Ⅳ章）。

### 〔対 象〕

研究 1. 茨城県三和町の一般集団の小中学生722人。研究 2. 喘息群：筑波大学小児科アレルギー外来を訪れた気管支喘息患児47名。対照群：同科外来健常児16名。研究 3. 同科アレルギー外来を訪れたダニアレルギーを有する気管支喘息患児36例（Ⅰ群）、ダニアレルギーを有する非喘息児36例（Ⅱ群）、ダニアレルギーも喘息



もない健常児21例（Ⅲ群）。

## 〔方 法〕

### 1. アレルゲン

ダニ抗原は市販の *Dermatophagoides farinae* (Df) 虫体抽出物（鳥居薬品）を使用した。

### 2. ダニ特異IgE抗体、血清IgEの測定

特異IgE抗体はSephrose-RAST法で測定し、各検体血清の倍々希釈の系列を調製し、RASTを陽性とする最大希釈濃度をダニ特異IgE抗体値とした。血清IgE値はRISTキット（ファルマシア社）によって測定した。

### 3. ヒスタミン遊離能の測定

好塩基球を各種濃度のダニ抗原で培養し、遊離したヒスタミンをradio-immunoassay (RIA) で測定した。50%ヒスタミン遊離を引き起こすDf抗原濃度をHR<sub>50</sub>として表記した。

### 4. 末梢血好酸球数の測定

直接法で算定した。

### 5. 好酸球陽イオン蛋白（Eosinophil Cationic Protein : ECP）の測定

ECP RIAキット（Pharmacia, Sweden）を用いて測定した。

### 6. 主要塩基性蛋白（Major Basic Protein : MBP）の測定

サンドイッチELISA法で測定した。

### 7. 気道反応性の測定

日本アレルギー学会標準法のメサコリン吸入試験を用いて気道反応性閾値（PC<sub>20</sub>）を測定した。

## 〔結 果〕

### 研究 1.

1. 学童一般集団における気管支喘息の有病率は3.6%であった。
2. 小児気管支喘息の有病率とダニ特異IgE抗体値との間に有意の相関が認められた。

### 研究 2.

1. 気管支喘息患児では、対照群に比較してダニ特異IgE抗体値と血清IgE値が有意に高く、PC<sub>20</sub>が有意に低かった。

2. 気管支喘息患児ではダニ特異IgE抗体値、血清IgE値と気道反応性 ( $PC_{20}$ ) との間に有意の相関は認められなかった。

### 研究 3.

1. 好塩基球ヒスタミン遊離能 ( $HR_{50}$ ) には、I 群とII 群との間で有意な差は無かった。  
2. 末梢血好酸球数平均値および血清ECP値は、両者共に I 群で最も高値を、III 群で最も低値を、II 群で両グループの中間値を示した。また、3群間には有意差が認められた。

3. 血清MBP値は、I 群、II 群ともにIII 群に比較して有意に高かったが、I 群とII 群の間では有意差は認められなかった。

4.  $PC_{20}$ の平均値は、I 群で最も低く、II 群で中間、III 群で最も高かった。3群間に有意差が認められた。

5. II 群で $PC_{20}$ と末梢血好酸球数、 $PC_{20}$ と血清ECP値、および $PC_{20}$ と血清MBP値との間にそれぞれ有意の相関が認められたが、I 群ではそのような相関は見られなかった。

### 〔考 察〕

本研究によって気管支喘息の有病率がダニ特異IgE抗体の量に比例して増加することが確認され、これまでの多くの報告と同様に、気管支喘息発症におけるダニアレルギーの関与が量的に明らかにされた。また、ダニアレルギーは気道反応性の亢進に重要な役割を演じているが、気道反応性の亢進にはアレルギー以外の因子も関与していることが明らかにされた。さらに、ダニアレルギーのある非喘息児の末梢血好酸球数、血清ECP値および血清MBP値は、健常児の値に比較して有意に高値を、 $PC_{20}$ は逆に低下傾向を示した。また、ダニアレルギーのある非喘息児の血清ECP値と $PC_{20}$ がダニアレルギーのある気管支喘息患児と健常児の中間値を示し、 $PC_{20}$ と末梢血好酸球数、 $PC_{20}$ とECP値および $PC_{20}$ とMBP値との間にそれぞれ有意の相関が認められたことから、ダニに対するアレルギー反応によって引き起こされる好酸球性炎症の程度は、喘息の発症に深く関与していると推測された。

### 〔結 論〕

小児気管支喘息の発症は、ダニ抗原に対する特異免疫応答性に強く依存していることが示唆された。さらに、ダニアレルギーによって引き起こされる好酸球性炎症は気道過敏性を亢進させ、気管支喘息の発症に深く関与していると推測された。

## 緒 言

小児気管支喘息は種々の刺激に対する気道の反応性の亢進によって特徴づけられる疾患であるが、その発症にはアレルギー、感染、炎症、大気汚染、運動、気管支平滑筋の感受性、内分泌、心理的要因など種々の因子が複雑に関与していることが知られている。本邦では昭和47年頃から増加し、現在はやや頭打ちの傾向はあるが、小児における推定有病率は3~5%であり、小児の慢性疾患の中では大きな割合を占め、その病因の解明と治療方法、予防対策の確立が急がれている。

気管支喘息がアレルギーと関係していることは古くから報告されていたが<sup>1)</sup>、1966年IshizakaによりIgEが発見されて以来、I型アレルギーの代表的疾患と考えられるようになり、特に小児においては、室内塵中のダニアレルゲンがその発症に深く関与していることがしだいに明らかにされてきた。しかし、気管支喘息はダニアレルギーが無くても発症することがあり、一方、ダニアレルギーがあっても発症しないことも多く、気管支喘息発症におけるダニアレルギーの役割は不明な点が多い。

最近では、気管支喘息は、好酸球、T細胞、肥満細胞などの炎症細胞が関与した気道の慢性炎症性疾患であり、その気道炎症に伴い気道上皮の損傷と気道反応性の亢進がみられる可逆性気道閉塞疾患と考えられるようになった。そして、アトピー素因のある人に発症することが多く、気道でのダニなどの抗原曝露によるアレルギー反応は気道炎症を通じて気管支喘息発症に重要な役割を果たすと考えられている。しかし、アレルギーによって気道炎症がおこる機序や気道反応性亢進の過程については不明な点が多く、特に小児ではほとんど解明されていない。

以上のことから小児気管支喘息の成因におけるダニアレルギーの役割を明らかにすることは、①小児気管支喘息の早期発見、治療および予防方法の確立、②小児気管支喘息患者の重症化の阻止、という観点から極めて有意義かつ重要な課題であると思われる。

## 第 I 章 文献的考察

### I - 1 気管支喘息の概念の歴史

#### 黎明期

気管支喘息は紀元前からその記録が残っている古い疾患である。古代ギリシャにおいて、Hippocrates<sup>2)</sup>はこの疾患を現在のasthma（英）の語源である  $\alpha\sigma\theta\mu\alpha$  として記載している。また同時代のAretaeus<sup>3)</sup>は喀痰の分泌増加やそれに伴う呼吸困難の臨床像をかなり正確に観察していた。16世紀になって、Van Helmont<sup>4)</sup>は気管支喘息を初めて気管支の病気であるとし、気管支喘息の症状は気候の変化、刺激物の吸入、特定の食物摂取と密接に関連していることを鋭い洞察力で観察した。1819年、Laënnec<sup>5)</sup>は聴診器を考案し、それにより笛声ラ音を気管支喘息の理学的所見の特徴としてはじめて捉えることを可能とした。また、その生理学的機序に関し、“気管支、肺胞周囲の筋繊維の収縮である”という現在でも通用する考えを示した。

#### アレルギー時代

20世紀に入ると、Behring、北里ら<sup>6)</sup>はジフテリアと破傷風の抗毒素血清療法を発見した。1902年、フランスの生理学者Richet<sup>7)</sup>は毒素に対する免疫状態を賦与しようとの目的で、イソギンチャクの触手から抽出した毒素をイヌに注射する実験を行っていたが、第2回目の毒素注射を少々間をおいて行ったところ、期待していた免疫状態とは逆に、より微量の毒素に対してかえって過敏となり、激しい症状の下に致死するという現象に遭遇し、防御（prophylaxis）に対して“アナフィラキシー（Anaphylaxie）”と命名した。1903年、Arthus<sup>8)</sup>はウサギの皮内あるいは皮下に2～5mlのウマ血清を5日～1週間の間隔をおいて反復注射すると、6回目頃から注射局所に浮腫が出現し、次第に出血、壊死が起き、次いで潰瘍となる現象すなわち“アルサス現象”が生じることを発見した。1906年、ウィーン大学小児科の

Clemens von Pirquet<sup>9)</sup> は、“生体がある抗原物質に反復曝露された時に示す特異的な反応性の変化”をギリシャ語の *allos* (altered; 本来の状態から変じた)、*ergon* (action; 作用) に由来して “allergy” と呼んだ。1910年、Meltzer<sup>1)</sup> は、ヒトの気管支喘息とモルモットの実験的アナフィラキシーとの類似性を指摘し、同時に気管支喘息、季節性の鼻炎、一部の皮膚疾患のアレルギー説を提唱した。1916年、Cooke<sup>ら</sup><sup>10)</sup> は気管支喘息、枯草熱、蕁麻疹などはいずれも家系的、遺伝的な色彩の強い関連疾患と考え、これらをアトピーと呼称した。1921年、Prausnitzと Küstner<sup>11)</sup> はアトピー患者の血清を健常人の皮膚に皮内注射し、48時間後にその部位に抗原を注射すると、膨疹を伴う紅斑が出現することから、これらの患者血清中には抗原と特異的に反応する抗体が存在することを明らかにした。この抗体は後に Coca<sup>12)</sup> により “レアギン” と名付けられた。レアギンは1966年に、Ishizaka<sup>ら</sup><sup>13)</sup>、その後Johansson<sup>ら</sup><sup>14)</sup> によって、免疫グロブリンの一種であることが突き止められ、1967年 Ishizaka によって IgE と命名された。1967年、Wide<sup>ら</sup><sup>15)</sup> によって radioallergosorbent test (RAST) による特異 IgE 抗体の測定法が開発され、アレルギー診断法は飛躍的に進歩を遂げた。

一方、20世紀の初頭から室内塵が気管支喘息の原因物質として注目されていた。1921年、Kern<sup>16)</sup> は婦人氣管支喘息例について報告し、その中で、寝室内の枕、マットレスを厚手の紙で包み、床や壁の清掃を徹底的に行ったところ症状の著明な改善がみられたことから、室内塵が気管支喘息の発作に関与している可能性を指摘した。翌年Cooke<sup>17)</sup> も臨床的観察から気管支喘息の原因アレルギーとして室内塵 (house dust) の重要性を強調した。1964年、Voorhorst<sup>ら</sup><sup>18)</sup>、1968年、Miyamoto<sup>ら</sup><sup>19)</sup>、1970年、Oshima<sup>20)</sup> により室内塵の主要抗原物質はチリダニであることが明らかにされた。その後、気管支喘息はダニアレルギーに関連した疾患として研究されるようになった<sup>21)</sup>。

室内塵中には36種類のダニが認められるが、中でもアレルギーとしては、ヒョウヒダニ属のヤケヒョウヒダニ (*Dermatophagoides pteronyssinus* : Dp) と、コナヒョウヒダニ (*Dermatophagoides farinae* : Df) が重要であることが明かとなった。1980年、Chapman<sup>ら</sup><sup>22)</sup> は Dp のアレルギーを解析し、分子量25KDのmajor allergen, P1 (Der p 1) が存在することを始めて報告した。その後、分子量15KD

のDer2も精製されている。現在、Der1はprotease活性のある抗原であり、Der2はダニの虫体由来の分子であることが明らかとなっており、そのアミノ酸配列も決定されている<sup>23-26)</sup>。1990年、Shibasaki、Takedaら<sup>27)</sup>は小児気管支喘息の発症がダニアレルギーとのみ関連し、花粉などの他の抗原によるアレルギーとは関係が無いのか否かを明らかにするため、ダニとカモガヤの2種類の異なる抗原が同時に強い環境アレルゲンになっている地域の学童を対象に疫学的調査を行い、気管支喘息の有病率とダニ特異IgE抗体値との間には有意な相関が認められるが、カモガヤ特異IgE抗体値との間には相関が認められないことを確認した。また、アレルギー性鼻炎の有病率とカモガヤ特異IgE抗体値との間には有意な相関が認められるが、ダニ特異IgE抗体値との間には認められないことを示した。この事実は、気管支喘息の発症がダニ特異IgE抗体産生量に比例して増加し、カモガヤ特異免疫応答には依存していないことを示唆している。換言すると、気管支喘息発症にダニアレルギーが深く関与していることを質的、量的に明らかにしたものととして注目される。

#### β受容体遮断説と自律神経系の不均衡

1948年、Ahlquist<sup>28)</sup>は種々の動物実験によって循環器、消化器、泌尿器、瞳孔などに対するカテコールアミン類の作用を比較し、その感受性の違いからカテコールアミンの受容体にはαとβの2種類があることを示した。イソプロテレノールはβ受容体に最も強く作用し、α受容体にはほとんど作用せず、一方ノルエピネフリンはα受容体に強く作用するが、β受容体に対する作用は弱い。その後α、β受容体それぞれに対する遮断薬が発見され、これらの受容体の存在が確認された。1967年、Landsら<sup>29)</sup>はβ受容体はさらに、心臓の興奮性を高めるβ<sub>1</sub>受容体と気管支拡張作用を有するβ<sub>2</sub>受容体の2つがあることを明かにした。

1968年、Szentivanyi<sup>30)</sup>は百日咳ワクチンで感作したラットやマウスにおいて、ヒスタミン、セロトニン、ブラジキニン、アセチルコリンに対する気道感受性の増加、寒冷刺激、気圧変化、吸入刺激物に対する気道反応性の亢進、カテコールアミンに対する反応性の低下、末梢血好酸球の増加、抗体産生の増加などのみられることを観察し、これらはヒトの気管支喘息の病態生理学的特徴によく類似していると

考えた。特に、彼は百日咳菌感作のラットやマウスでカテコールアミンに対する気道感受性が低下している点に注目し、百日咳ワクチンのかわりに $\beta$ 受容体遮断薬のプロプラノロールをラットに投与することにより、ほぼ同様の変化を作ることにより成功した。これらのことからSzentivanyiは、“ $\beta$ 受容体機能の低下が気管支喘息の原因”という「 $\beta$ 受容体遮断説」を提唱した。臨床的にも $\beta$ 遮断薬であるプロプラノロールの経口投与で気管支喘息が誘発されることはよく知られている。一方、健常者に $\beta$ 受容体遮断薬を投与しても、メサコリンに対する気道感受性の亢進も運動誘発の気道収縮もおこらない<sup>31,32)</sup>ことは、 $\beta$ 受容体の遮断が気管支喘息を引き起こしている直接の原因ではないことを示唆している。

自律神経系の不均衡が気管支喘息の発症に関与していることを示唆する報告は多い<sup>33)</sup>。気管支喘息患者においては $\alpha$ 受容体刺激剤のフェニールエフェリンが、健常者に比較してより少量で皮膚の血管床の収縮や瞳孔散大をひきおこす効果のあることや、 $\alpha$ 受容体拮抗剤が気管支喘息患者における運動誘発性の気管支収縮やヒスタミン吸入による気道収縮を予防する効果のあることは古くから知られていた<sup>34-36)</sup>。Szentivanyi<sup>37)</sup>は近年、気管支喘息患者の交感神経機能低下は、気管支、肺組織の $\beta$ 受容体の数の減少と $\alpha$ 受容体の数の増加によって出現するという考えを示した。

大多数の気管支喘息患者では、正常人の場合に比べて、比較的低濃度のメサコリンで気道収縮が引き起こされるが、アトロピンで前処置を行った気管支喘息患者では、冷気の吸入や不活性化された粒子などの刺激物による気道収縮が予防される。このことから、気管支喘息患者におけるコリン作動性神経系の機能亢進が非特異的な気道過敏性の原因として重要な役割を演じているとする考えも多い<sup>38,39)</sup>。上気道のウイルス感染、オゾンへの曝露、sulfur dioxide ( $\text{SO}_2$ )の吸入などは健常者にもアセチルコリン刺激に対する気道反応性の亢進を惹起するが、抗コリン剤のアトロピンはそれらを予防する<sup>39-42)</sup>。さらに、メサコリンを気管支喘息患者やアレルギー性鼻炎患者の皮内に注射すると健常者に比べてより強い反応の現れることから、アセチルコリン感受性の亢進は気道に限られたものではないことがわかる<sup>43)</sup>。

以上のように、気管支喘息患者は $\beta$ 受容体の機能低下、 $\alpha$ 受容体の機能亢進、アセチルコリン感受性の亢進がみられるが、アレルギー性鼻炎患者では $\beta$ 受容体の機能低下、アセチルコリン感受性の亢進のみがみられることから、 $\alpha$ 受容体の機能亢進

が気管支喘息の発症に関与しているのではないかと考えられている。また $\beta$ 受容体に対する自己抗体が気管支喘息患者の血漿で検出されたという報告もある<sup>44)</sup>。しかし、この自己抗体はイソプロテレノールに対する感受性が低い以外は正常な非喘息者においても発見されていることから、現在では気管支喘息の原因としてあまり重視されていない。

### 気道反応性

気管支喘息が様々な外因性の刺激物により誘発されることは臨床的観察により古くから知られていた。1838年、Buchanら<sup>45)</sup>は気管支喘息発作の原因あるいは誘因として、ガス、寒風、霧などの吸入を挙げた。また1830年、Eberle<sup>46)</sup>は発作の誘因として気象状況、不快な煙霧の吸入を挙げた。1850年、Gerhard<sup>47)</sup>はそれらに加えて、におい、外界の温度、湿度差などの環境変化、季節の変化などが発作の誘因として重要であると指摘した。1943年、楠<sup>48)</sup>はアセチルコリン吸入やヒスタミン皮下注により気管支喘息患者の血族の非喘息者に気管支喘息発作と同様の反応が現れることを認め、これを“気管支反応”と呼び、気管支喘息の基本的病態として気管支の過興奮性が重要であると指摘した。

一方、気道過敏性を客観的に評価する試みは20世紀初期から行われてきた。1921年、Alexandar<sup>49)</sup>は気管支喘息患者にピロカルピンを皮下注射して発作を誘発した。1943年、楠<sup>48)</sup>は20%アセチルコリン吸入による肺活量の減少によって気道過敏性を判定した。Curry<sup>50)</sup>は1947年、健康人、枯草熱患者および気管支喘息患者にメサコリン、ヒスタミンを吸入させることによって気管支喘息発作を誘発した。1945年、Tiffeneau<sup>51)</sup>は気道過敏性を定量的に評価するため、倍々に希釈したアセチルコリン液を気管支喘息患者に吸入させ、それに伴う呼吸機能の変化から気道過敏性の有無を調べた。

1970年代に入り、それまで研究者によって異なっていた吸入誘発試験の標準化の動きがアメリカ、カナダを中心に始まった<sup>52-54)</sup>。その基本的な考え方は、気道収縮を惹起するアレルゲンや薬物などの刺激物質の吸入濃度を低用量から変化させ、それに対する気道抵抗や肺機能の変化を調べ、一定の気道抵抗の増加や肺機能の低下



を引き起こすのに要した刺激物質の用量または濃度から気道反応性閾値を定量化しようとするもので<sup>53)</sup>、ヒスタミンおよびメサコリンをエアゾル状にして自然呼吸により吸入する方法<sup>54)</sup>、アレルゲン、メサコリンあるいはヒスタミンの規定量をドシメーターを用いて投与する方法<sup>52)</sup>などが標準化されている。我が国でも1982年に日本アレルギー学会が標準法を作成した<sup>55)</sup>。この方法はChaiら<sup>52)</sup>のドシメーター法とは異なり、安静換気でアセチルコリンまたはヒスタミンを吸入させるもので、FEV<sub>1.0</sub>が初期値より20%低下した時の吸入薬剤の濃度(PC<sub>20</sub>)を吸入閾値としている。

### アトピーと遺伝

気管支喘息、花粉症、アトピー性湿疹などのアレルギー疾患が、同一家系内に多発することは古くから知られていたが、これが遺伝素因として本格的に研究されるようになったのは、20世紀初頭からである。CookeとVander Veer<sup>10)</sup>は、一般集団および枯草熱、喘息、蕁麻疹、angio-neurotic edema、消化管アレルギーの患者と、その家族621例で包括的研究を行い、1) 一般集団におけるアレルギーの頻度は7%であること、2) アレルギーの家族歴はアレルギー患者の48.4%、正常人の14.5%に認められること、3) 両親がアレルギー、片親がアレルギー、両親ともアレルギーがない場合のこどもの罹患率を、それぞれ67.5%、60.0%、38.0%と算定し、アレルギー疾患は常染色体優性遺伝により決定されると結論した。その後、単純劣性遺伝説<sup>56,57)</sup>、多因子遺伝説<sup>58)</sup>が提唱されたが、いずれの説もアレルギー疾患の遺伝を完全に説明できるものではなかった。1972年、McDevittとSela<sup>59)</sup>はチロシン、グルタミン酸、アラニン、リジンからなる合成ペプチド抗原(T,G)-A-LをC57マウスとCBAマウスに免疫して、抗体産生能を調べた。その結果C57は高応答性であり、CBAは低応答性であった。さらに、F1戻し交配実験を行って、合成ペプチド抗原(T,G)-A-Lに対する抗体産生を支配する対立遺伝子の存在と抗体産生能が常染色体優性遺伝することを明らかにした。さらに、この遺伝子は主要組織適合遺伝子複合体(major histocompatibility complex: MHC)に連鎖していることが明らかにされ、免疫応答遺伝子(immune response gene: Ir-gene)と命名された<sup>60)</sup>。

1970年VazとLevine<sup>61)</sup>は、IgE抗体産生にも高応答性と低応答性を示すマウスの系統があることを見いだした。彼らは、戻し交配の実験により、高応答性が常染色体優性遺伝を示し、H-2に連鎖していることを証明し、IgE特異抗体産生を支配するIr-geneの存在を明らかにした。ヒトでもアレルゲン特異IgE免疫応答性が、特定のhuman leukocyte antigen (HLA) ハプロタイプと連鎖して遺伝することが明かにされ、アレルゲン感作には免疫応答遺伝子が深く関与している可能性のあることが示唆された<sup>62-64)</sup>。

1988年、Cooksonら<sup>65,66)</sup>は分子遺伝学的方法によりアレルギー素因の遺伝子座の同定を試みた。彼らは、異なる染色体由来のDNAプローブを用いて検出される多型とアトピーとの連鎖を調べ、アトピーは第11染色体の長腕由来のTaq/P lambda MS.51遺伝子プローブの10.8kb切断断片に強く連鎖して遺伝することを明らかにした。1994年、Marsh<sup>67)</sup>は5q31.1座位付近のIL-4サイトカイン遺伝子群が抗原非特異的なIgE抗体産生を制御していることを示唆する論文を発表した。

1987年、Kobilkaら<sup>68)</sup>はヒト $\beta_2$ -アドレナリン受容体遺伝子をクローニングすることに成功し、これが第5染色体長腕(5q31-32)に位置するイントロンを持たない単一遺伝子であることを突き止め、413のアミノ酸からなる蛋白構造を明らかにした。Lentesら<sup>69)</sup>は、この遺伝子DNAは制限酵素Ban-Iで切断した場合に、生じたDNA断片の長さに個体差の認められるいわゆる制限酵素断片長多型(restriction fragment length polymorphism: RFLP)であることを報告した。Oheら<sup>70)</sup>は気管支喘息患者におけるヒト $\beta_2$ -アドレナリン受容体遺伝子の多型について検討し、2.1kbと2.3kbの2つの対立遺伝子の存在を確認し、対立遺伝子2.1kbのhomozygotesの者では、対立遺伝子2.3kbのhomozygotesや対立遺伝子2.1kbと対立遺伝子2.3kbのheterozygotesに比べsulbutamolに対する反応性の有意な低下が認められ、喘息の有病率も高値であったと報告している。

### 好酸球性炎症

1889年、Gollasch<sup>71)</sup>は1879年Ehrlich<sup>72)</sup>によって発見された好酸球が、気管支喘息患者の喀痰に著しく増加していることを認め、好酸球と気管支喘息との関連を

初めて指摘した。しかし、その機序については長い間不明であった。

1975年、Goetzel、Austenら<sup>73)</sup>は好酸球が肥満細胞から遊離される slow reacting substance of anaphylaxis (SRS-A)、血小板活性化因子 (platelet activating factor : PAF)、ヘパリンなどの I 型アレルギー反応のメディエータを不活性化し、反応を抑制する作用があることを示唆した。

1973年、Gleichら<sup>74)</sup>はモルモット好酸球から Major Basic Protein (MBP) を分離し、その後この物質が気道粘膜上皮の破壊作用を持つことを明らかにした<sup>75)</sup>。Olssonら<sup>76,77)</sup>は1974年、慢性骨髓性白血病患者の白血球より塩基性蛋白を分離し、1977年、これが好酸球顆粒由来であることを突き止め、好酸球陽イオン蛋白 (Eosinophil Cationic Protein : ECP) と命名した。そして後に、このECPにも気道上皮傷害作用のあることが判明した<sup>78,79)</sup>。

1975年 Horn<sup>80)</sup>は、気管支喘息患者の気道閉塞の程度と末梢血好酸球数が関連することを見だし、末梢血好酸球数は気管支喘息の診断や重症度判定のパラメータとして有用であると報告した。1974年にReynoldsら<sup>81)</sup>によって臨床応用された気管支肺胞洗浄 (BAL) を用い、1980年、竹山ら<sup>82)</sup>は気管支喘息の病態研究のため気管支肺胞洗浄液 (bronchoalveolar lavage fluid : BALF) の細胞の解析を行った。その後、気管支喘息患者の気道の生検病理所見が検索され、好酸球優位の気道炎症は気管支喘息の普遍的特徴であり、その炎症の程度は気道過敏性と密接に結び付いていることが明かにされた。1984年Taiら<sup>83)</sup>は、好酸球増多症候群患者の末梢血好酸球を用いて、好酸球由来因子に対する二つのIgG分画に属するモノクローナル抗体を作成した。一つは、純度90%の好酸球から無刺激で得た抽出顆粒に対する抗体 (EG1抗体)、もう一つは、純度70%の好酸球をzymosan-C3aで刺激活性化し、得られた好酸球分泌物に対する抗体 (EG2抗体) で、EG1抗体は非分泌型および分泌型ECPの両者と結合するが、EG2抗体は分泌型ECPとのみ結合する。1992年、Bradleyら<sup>84)</sup>は免疫組織学的検討により、成人のアトピー型気管支喘息患者の気道粘膜のEG2陽性好酸球が、非喘息アレルギー患者や健常者に比べて有意に増加しており、また気道過敏性の亢進例では総白血球数 (CD45) に対するEG2陽性好酸球の割合と気道過敏性の程度の間には負の相関があったと報告している。また同年、Djukanovicら<sup>85)</sup>はアトピー型気管支喘息患者の気道粘膜の免疫組織学的検討を行

い、EG2陽性好酸球が健常者に比較して有意に増加していることを報告し、活性化好酸球が気道炎症の形成過程において重要な役割を演じていることを示唆した。

最近、好酸球をはじめとした炎症細胞が気道局所において浸潤し機能する過程で細胞表面に接着分子が介在することが明らかにされ、気管支喘息の病態におけるその役割が注目されている<sup>86)</sup>。また、好酸球の抗原提示能や、免疫担当細胞としての働きも証明され<sup>87)</sup>、その多様な機能がしだいに解明されつつある。

## I - 2 気管支喘息の定義と分類

1959年、Ciba Foundation Guest Symposium<sup>88)</sup>において気管支喘息の定義が初めて論議され、「気管支喘息は、広汎な気道の狭窄による疾患で、その気道の狭窄の程度が自然あるいは治療によって短時間に変化し、心血管系の疾患に起因しないもの。」と定義された。また、その生理的特徴として、1) その症状は気管支の収縮によりおこること、2) 発作の状態は短時間で変化し可逆性であること、という2点が明示された。しかしその後、遅発反応が存在することや慢性的に気道狭窄を示す例が存在することなどから、この定義だけでは気管支喘息の病態を説明できないことがしだいに明らかとなり、今日では“気道反応性亢進”が病態生理の上で不可欠な要因として認識されるようになった。

1962年のAmerican Thoracic Society (ATS) の定義<sup>89)</sup>では、「気管支喘息は、気管及び気管支の種々の刺激に対する反応性の亢進状態で、気道系の広範囲な狭窄によって特徴づけられているが、その狭窄が、自然にあるいは治療によって改善するものである。喘息という用語を広範な気管支感染、肺実質の破壊を来す疾患、あるいは心疾患に由来する気管支の狭窄などに使用するのとは適当ではない。」とされ、気道反応性の亢進は気管支喘息発作の必須条件として記載されるに至った。1978年、Ferrisら<sup>90)</sup>はこれらATSによる定義をもとに疫学調査に際して喘息診断に利用するため、質問紙法を標準化し後に日本語版も作成された。本邦では、1988年、宮本ら<sup>91)</sup>によって「気道の反応性亢進という特徴を有し、広範な気道の狭窄によって反復性の呼吸困難の症状を現す疾患で、その強さが自然に、または治療によって変化し、かつ類似症状を示す、肺、心臓血管系の疾患によらないもの」という定義がなされている。

1992年、NIH気管支喘息の診断と管理のための国際委員会によって「International Consensus Report on Diagnosis and Management of Asthma (気管支喘息の診断と管理に関する国際コンセンサスレポート)」<sup>92)</sup>が提出された。その中で「気管支喘息は肥満細胞、好酸球などの多くの細胞が関与する気道の慢性炎症性疾患である。過敏性のある患者では、この炎症が(気道の)広範囲に、かつ変化する気流閉塞による症状をおこす。この気流閉塞はしばしば自然に、

または治療により回復する可逆的なものである。気道炎症は種々の刺激に対する気道反応性の亢進を伴う。」と定義された。ここでは、好酸球細胞浸潤などの病理組織所見にみられる炎症像の意味が再検討され、気道の炎症が気道反応性の亢進の原因であると結論づけている。さらに、1995年NIH<sup>93)</sup>より提出された「Global strategy for asthma management and prevention NHLBI/WHO workshop report」では、「気管支喘息は慢性の炎症性気道障害で、多くの細胞、特に肥満細胞、好酸球及びTリンパ球が関与している。素因を有するものでは、この炎症により喘鳴、息切れ、胸部圧迫感、および咳の発作が、特に夜間あるいは早朝に繰り返しておこる。これら症状に伴って、通常、広範であるが変動する気流制限がみられ、これは自然にあるいはいは何かの治療により少なくとも部分的には可逆的である。気道の炎症は、また、種々の刺激に対する気道過敏性の原因ともなる。」と定義され、気管支喘息は好酸球やマスト細胞、Tリンパ球などの種々の炎症細胞を介して気道に引き起こされる炎症が主因であることが強調されている。

我が国では、1993年、日本アレルギー学会<sup>94)</sup>により継続して治療を必要とする気管支喘息について「気管支喘息は広汎かつ種々の程度の気道閉塞と気道の炎症により特徴づけられる。気道閉塞は軽度のものから致死的な高度のものまで存在し、自然にまた治療により可逆的である。気道炎症はリンパ球、肥満細胞、好酸球など多くの炎症細胞が関与し、気道粘膜上皮の損傷を示し、種々の刺激に対する気道の反応性亢進を伴う。」と定義されている。また、小児については、「発作性に笛性喘鳴を伴う呼吸困難を繰り返す疾病であり、その呼吸困難は自然ないし治療により軽快、治癒するもので、類似症状を示す肺、心臓、血管系の疾患を除外する。」と記述された<sup>95)</sup>。

気管支喘息の病型については、様々な分類が試みられている。1928年に Rackemann<sup>96)</sup>が外因性（型）、内因性（型）の2型に分類したのを始め、1954年、Swineford<sup>97)</sup>はアトピー型と混合型、感染型に分け、アトピー型は小児・思春期に多く、レアギンが関与しており、一方、感染型は成人に多いとした。1978年、Rose<sup>98)</sup>は病因によりアトピー性、非アトピー性、混合型、アスピリン感受性、運動誘発性、寒冷感受性、アレルギー性気管支肺アスペルギルス症、産業気管支喘息の8型に分類した。しかし、このような細分類はほとんど利用されていない。1993年の

日本アレルギー学会気管支喘息委員会より提案された分類<sup>94)</sup>や1992年の「気管支喘息の診断と管理のための国際委員会の報告」<sup>92)</sup>では、いずれもアトピー型（IgE依存型ないし外因性）と非アトピー型（非IgE依存型、内因性）の2型分類となっている。

### I - 3 気管支喘息の病態生理

#### I - 3 - 1 気管支喘息の病理

気管支喘息患者の気管支粘膜生検像<sup>99-101)</sup>は、線毛細胞を主とした上皮細胞の局所的な脱落と変性、上皮の細胞間隙の開大、線毛細胞や杯細胞の基底膜からの解離などが見られ、これらに伴い基底膜が局所的に気道内腔に露出している。基底膜は肥厚し、杯細胞は過形成を呈する。さらに上皮や粘膜固有層に好酸球、リンパ球、肥満細胞などの炎症細胞の浸潤が見られ、特に肥満細胞はその多くが脱顆粒している。線毛細胞が変性、脱落した後は、線毛の無い単純な層状構造を示す細胞が分裂、増生し、気管支上皮の杯細胞化や扁平上皮化生をおこすと考えられている<sup>100)</sup>。基底膜の肥厚はコラーゲンとフィブロネクチンの蓄積によるものであることが電顕的、免疫組織学的に明かになっている<sup>102)</sup>。粘膜固有層では好酸球の浸潤に伴った壊死巣に一致してECPやMBPの存在が証明され<sup>103,104)</sup>、好酸球顆粒蛋白が気管支上皮の組織破壊に大きな役割を担っていることが推測されている。気管支上皮の浅い層には通常はあまり神経細胞は認められないが、Laitinenら<sup>99)</sup>は気管支喘息患者では上皮傷害に伴い細胞体に多くのミトコンドリアを含んだ、求心性神経の神経末端と思われる細胞体を認めたと報告し、これら上皮傷害は気道反応性の亢進に深く関与している可能性を示唆した。

CD4<sup>+</sup>ヘルパーT細胞の気管支粘膜内浸潤密度は、有症状気管支喘息患者群では無症状気管支喘息患者群および非喘息患者群に比べて有意に高いといわれている<sup>105)</sup>が、Robinsonら<sup>106)</sup>は気管支喘息患者のBALF中には特にT細胞のサブタイプであるTh<sub>2</sub>細胞が健常者に比べて特異的に増加していると報告している。またFukudaら<sup>107)</sup>は生検した気管支喘息患者の気管支粘膜においてTh<sub>2</sub>細胞が特異的に産生するサイトカインであるIL-5のmRNAの*in situ* hybridizationおよびIL-5の免疫染色を行い、CD4<sup>+</sup>ヘルパーT細胞の分布に一致してIL-5のmRNAが発現しているとともに、IL-5産生細胞が存在していることを認め、気管支喘息の気道粘膜内のT細胞はTh<sub>2</sub>に属することを示唆した。

その他に気管支喘息患者の気管支粘膜内の活性化好酸球（EG2<sup>+</sup>好酸球）とIL-2レ



セプター陽性（CD25<sup>+</sup>）T細胞が健常者に比べて増加しており、両者の間には有意の相関があるという報告もある<sup>84)</sup>。

### I-3-2 アレルギー反応<sup>108-110)</sup>

CoombsとGell<sup>111)</sup>は免疫反応としてのアレルギー反応を4型に分類した。I型アレルギー反応はIgE抗体に依存した即時型反応で気管支喘息、アレルギー性鼻炎、アトピー性皮膚炎、アレルギー性結膜炎、花粉症、じんましん、アナフィラキシーショックなどに関連している。II型アレルギー反応は細胞表面抗原と抗体の反応で、それに補体成分が関与しておこる細胞傷害性反応で、Rh不適合、自己免疫性溶血性貧血、Goodpasture症候群、急性移植片拒否反応などの原因になる。III型アレルギー反応は免疫複合体immune complex型またはArthus型ともいわれ、流血中のIgGと抗原が結合して可溶性免疫複合体をつくり血管壁付着、補体活性化、白血球遊走の過程によりおこるもので、この反応によって引き起こされる疾患には、過敏性肺臓炎、アレルギー性気管支肺アスペルギルス症、SLE、慢性関節リウマチがある。IV型アレルギー反応は主にCD4<sup>+</sup>T細胞によるもので、細胞免疫型と呼ばれる。症状出現まで2〜3日かかるため遅延型反応ともいわれる。アレルギー性接触性皮膚炎はこの反応によると考えられている。

気管支喘息におけるI型アレルギー反応は、まず抗原が粘膜表面や局所リンパ節に侵入する。そこで抗原提示細胞（antigen presenting cells：APC）とT細胞の補助により、B細胞が刺激されIgE抗体が産生され、この特異IgE抗体がFcレセプターを介して肥満細胞に結合する。このようにして感作された肥満細胞に再び抗原が結合すると、IgEとの架橋現象により脱顆粒をおこし種々のケミカルメディエーターを遊離し、アナフィラキシー反応を引き起こす。

肥満細胞が放出するケミカルメディエーターは次の2つのグループに大別される。第一のグループは、肥満細胞の顆粒中に貯蔵されているメディエーターであり、生体アミンであるヒスタミン、プロテオグリカンであるヘパリンおよび肥満細胞中の主要な貯蔵蛋白であるトリプターゼと、好酸球および好中球の化学走化性及び活性化因子であるECF-A（eosinophil chemotactic factor of anaphylaxis）、NCF

(neutrophil chemotactic factor) である。

第二のグループは細胞が刺激を受けた後にde novoに生成され遊離されるメディエーターで、アラキドン酸代謝産物であるプロスタグランディンD<sub>2</sub> (PGD<sub>2</sub>)、トロンボキサンA<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>)、SRS-A (LTC<sub>4</sub>+LTD<sub>4</sub>)、LTB<sub>4</sub>および化学走化性及び活性化因子であるPAFがある。

気管支喘息におけるI型アレルギー反応には即時型気管支喘息反応 (Immediate asthmatic response; IAR) と遅発性気管支喘息反応 (late asthmatic response; LAR) があることが抗原誘発試験から明かにされた。IARは先に述べたように肥満細胞から遊離されたヒスタミン、LTC<sub>4</sub>、LTD<sub>4</sub>、LTE<sub>4</sub>、PGD<sub>2</sub>、TXA<sub>2</sub>、PAFなどのケミカルメディエーターの直接作用により引き起こされる。これらのケミカルメディエーターは、1) 平滑筋の収縮、2) 血管透過性の亢進、3) 気道分泌の亢進を引き起こし、気管支喘息での気道収縮や気道粘膜の浮腫による気道閉塞を惹起する。IARは抗原曝露後15～20分後が最大であるが、1時間以内にほとんどが消失する。

LARは抗原曝露後6-9時間後に観察される遅発性の気道収縮である。LARの病態には炎症細胞浸潤が深く関与していると考えられている。de Monchyら<sup>112)</sup> はダニアレルギーのある気管支喘息患者にハウスダストによる抗原誘発試験を行い、6～7時間後に気管支肺胞洗浄 (bronchoalveolar lavage : BAL) を施行しBALF中の好酸球数、ECPを観察し、LARが出現した患者群においては、LARが出現しなかった患者や対照群に比較してBALF中の好酸球数、ECP/アルブミン比がともに有意に増加していることを報告している。Wardlawら<sup>113)</sup> はアトピー型気管支喘息患者にBALを行い、BALF中のMBP濃度が高い症例ほど、剥離した気道上皮細胞が多数認められたと報告している。このようにLARでは、好酸球から放出される蛋白や酵素、産生されたPAFやLTC<sub>4</sub>、活性化酸素、15-hydroxyeicosatetraenoic acid (15-HETE) などのメディエーターが重要な役割を担っていると考えられている

114-117)。

### I - 3 - 3 気道炎症と気道過敏性

Cockcroftら<sup>118)</sup>は、気管支喘息患者とくに遅発性喘息反応のある患者にアレルギーを吸入させると、約1週間にわたりメサコリンやヒスタミンに対する気道反応性が亢進することを観察し、特異抗原曝露が気道過敏性の獲得に大きく関与していることを示した。またPlatts-Mills<sup>119)</sup>は、ダニアレルギーのある気管支喘息患者を病院に2か月以上入院させ、長期間室内塵抗原を回避させたところ、臨床発作の軽快とヒスタミンに対する気道反応性の改善が見られたことから、アレルギー反応を抑制することは気道過敏性の改善に重要であると報告した。これらの研究結果は、気管支喘息患者においてはアレルギー反応が気道過敏性の獲得に重要な役割を果たしている可能性のあることを示唆しているが、アレルギー反応の強さと気道過敏性の程度との定量的な関係については十分に明かにされていない。

一方、好酸球数、MBP濃度、剥離気管支上皮細胞数とメサコリンに対する気道反応性の亢進の程度の間には、有意の逆相関があり、好酸球を介した気道炎症が気道過敏性を引き起こしていることが示唆されている<sup>117)</sup>。Durham<sup>120)</sup>もLARの際に血液中の好酸球数とメサコリンに対する気道反応性の間には相関があったと報告している。Jefferyら<sup>102)</sup>は、11例の気管支喘息患者に気道反応性の測定と気管支粘膜生検を行い、メサコリンに対するPC<sub>20</sub>が低いほど気管支上皮の剥離の程度が高いことを認めた。Beasleyら<sup>101)</sup>もBALF中の剥離上皮細胞数とヒスタミンに対するPC<sub>20</sub>の関係を検討し、両者の間に有意な相関を認めたとしている。大橋ら<sup>121)</sup>は気管支喘息患者20例の気管支生検標本を調べ、上皮細胞間隙の開大やtight junctionの離開とその部位における好酸球や好酸球顆粒の存在を認め、気道上皮損傷の程度とアセチルコリンに対する気道反応性の亢進は相関していたと報告している。このように、好酸球を中心とした炎症細胞によって引き起こされる気道の炎症は、気道過敏性の原因になっていると考えられている。

#### I-3-4 神経因子とニューロペプチド

ヒトの気道は、古典的には交感神経系と副交感神経系のバランスにより緊張状態が調節されていると考えられていた。しかし、現在はアセチルコリンを神経伝達物質とする副交感神経系 (=コリン作動性神経系) およびノルアドレナリンやアドレナリ

ンを伝達物質とする交感神経系（=アドレナリン作動性神経系）のほかに、非アドレナリン・非コリン作動系神経経路（nonadrenergic noncholinergic神経系：NANC神経系）の支配も確認されている<sup>122)</sup>。NANC神経系はその生理学的作用の面から気道収縮に働く興奮性NANC（excitatory-NANC：e-NANC）神経と拡張性に働く抑制性NANC（inhibitory-NANC：i-NANC）神経とに分けられる。これらの神経は刺激に対して神経末端から複数の強力な薬理作用を持った神経ペプチドを放出することが明かとなっている。NANC神経末端に存在し、伝達物質として遊離される神経ペプチドとしては、e-NANC神経のサブスタンスP（SP）、ニューロキニンA（NKA）などのタキキニンやカルシトニン遺伝子関連ペプチド（calcitonin-gene related peptide：CGRP）が、またi-NANC神経の血管作動性腸管ペプチド（vasoactive intestinal peptide：VIP）が知られている。e-NANC神経の神経ペプチドは、粘液分泌の亢進、平滑筋収縮、血漿溢出、炎症細胞の活性化および付着などの気管支喘息発作時に見られる特徴的所見のほとんどすべてに関与しているものと考えられている。また、これらタキキニンに対する受容体にはNK-1、NK-2、NK-3の種類があり、順にSP、NKA、NKBに親和性を持ち、NK-1受容体を主とするものには血管平滑筋、粘膜下線あるいは杯細胞などの気管支上皮細胞などがあり、NK-2受容体を主とするものには気道平滑筋がある。

タキキニン分解酵素としては中性エンドペプチターゼ（neutral endopeptidase：NEP）、アンギオテンシン変換酵素（angiotensin converting enzyme：ACE）が知られている。NEPは主に気管支上皮にACEは主に血管内皮に存在する<sup>123)</sup>。健康者では気管支上皮に存在するNEPによりタキキニンが分解されるが気管支喘息患者では気管支上皮の剥離によりNEP活性が低下したりe-NANC神経の神経ペプチドの分泌の亢進などが、気管支喘息発作の発症に関与しているのではないかと考えられている<sup>122,124-126)</sup>。一方、VIPは気道の遠心性コリン作動性神経に局在して、アセチルコリンのコトランスミッター（共存伝達物質）として働くため、コリン性の気管支収縮に対する制御システムとして作用を有するものと考えられる。気管支喘息患者の気道では好酸球、好中球および肥満細胞などの炎症性細胞から、VIPを分解するトリプターゼなどの種々のペプチダーゼが分泌され、VIPの分解によって反射性のコリン性気管支収縮が増強され、気道炎症と関連した気道過敏性の発症に関与し

ている可能性が示唆されている<sup>122)</sup>。一酸化窒素 (nitric oxide : NO) は神経組織でも非神経組織でも一酸化窒素合成酵素の作用によりアルギニンより生成する気体であるが、気管支喘息においてはこの酵素が上皮細胞で増加していることを示唆する所見が得られている<sup>127)</sup>。NOは強力な血管拡張作用と気管支拡張作用を有し、VIPと同様のアセチルコリンと競合的に作用するi-NANCのコトランスミッターと考えられている。NOは炎症細胞の産生する活性酸素により極めて短時間で不活化し、このためi-NANCの気道弛緩作用も低下してしまうと考えられている<sup>122)</sup>。

### I - 3 - 5 T細胞とサイトカイン

CD4<sup>+</sup>T細胞 (ヘルパー/インデューサー) は、サイトカイン産生能に基づき、Th<sub>1</sub>細胞とTh<sub>2</sub>細胞の2種類のサブタイプに分けられる<sup>128-130)</sup>。IL-3とGM-CSFはTh<sub>1</sub>細胞とTh<sub>2</sub>細胞のいずれもが産生する共通のサイトカインである。また、Th<sub>1</sub>細胞はIL-2やIFN- $\gamma$ 、 $\beta$ 腫瘍壊死因子 (TNF- $\beta$ ) も産生する。とくにIL-2はTリンパ球の増殖を促進し、IFN- $\gamma$ はBリンパ球の活性化やBリンパ球によるIgE産生を阻害するものである<sup>129,130)</sup>。一方、Th<sub>2</sub>細胞はIL-3とGM-CSFの他にIL-4、IL-5、IL-9、IL-13を産生、分泌するが、IL-2やIFN- $\gamma$ の産生、分泌能はない。Th<sub>2</sub>細胞の産生するサイトカインのうちIL-3、IL-5、GM-CSFは好酸球の運動性の亢進<sup>131)</sup>、寿命の延長、好酸球性顆粒の脱顆粒の惹起<sup>132)</sup>などの作用を有し、IL-4はB細胞がIgE産生細胞へ分化するためのクラス・スイッチに必要である<sup>133)</sup>。さらに、肥満細胞や好塩基球はCD40リガンド (CD40L) を発現しており、IL-4の存在下においてB細胞のCD40と結合して、B細胞にIgE産生を誘発することが報告されている<sup>134)</sup>。このようにTh<sub>2</sub>細胞がそのサイトカイン産生を介し、気管支喘息を初めとするアトピー性疾患における炎症反応の中心的役割を果たしているものと考えられている<sup>129,130,135)</sup>。

### I - 3 - 6 接着分子と組織構成細胞の役割

気管支喘息発症時には気管支粘膜内に好中球、好酸球およびリンパ球の増加が認められ、これと平行して、血管内皮細胞上に特異的接着分子の発現することが近年明

らかになった。特異的接着分子とはE-セレクチン、細胞間接着分子-1 (intracellular adhesion molecule-1 : ICAM-1) および血管細胞接着分子-1 (vascular cell adhesion molecule-1 : VCAM-1) である。これらの血管内皮接着分子は活性化白血球上にある対応リガンド (レクチンまたはインテグリン) の活性型と結合する。例えば、Tリンパ球および好酸球上のインテグリンである lymphocyte function-associated antigen 1 (LFA-1) および macrophage antigen-1 (Mac-1) は ICAM-1 と結合し、very late antigen-4 (VLA-4) は VCAM-1 と結合する。血管内皮細胞の細胞内シグナルは、これらの細胞が内皮細胞に接着することにより高まり、内皮細胞間隙の開大を開始し、extravasationに進展すると考えられている<sup>135,136)</sup>。また好酸球の局所浸潤に際しては、ケモカインとよばれる走化性物質が必要とされる。現在好酸球に対して特異性の高いケモカインとしては血小板や血管内皮細胞から産生される RANTES (regulated upon activation, normal T cell expressed and presumably secreted) などの存在が知られている<sup>137)</sup>。さらに気管支喘息においては、気道炎症の慢性化に関与する一連のサイトカインが、気道の正常な組織構成細胞においても産生されていることが認められている。上皮細胞からは IL-6、IL-8、GM-CSF、IL-18 および TNF- $\alpha$  が産生される。血管内皮細胞は IL-8、IL-5 および GM-CSF を産生し、線維芽細胞は、肥満細胞成長因子、c-kit リガンド (幹細胞因子)、GM-CSF および IL-8 の重要な産生源である。これらのサイトカインは炎症反応を増強および維持する非免疫学的メカニズムにも関与しているものと考えられている<sup>138)</sup>。

#### I - 4 本研究の目的

以上の文献的考察から本研究では以下の事項を説明することを目的とする

1. 小児気管支喘息におけるダニアレルギーの病因的役割を明らかにするために、日本における主要な室内塵ダニ種である *Df* に対する特異IgE抗体の分布を一般学童集団で調べ、*Df* 特異IgE抗体値と気管支喘息の有病率との関係について明らかにする。
2. 気道過敏性の成因に占めるダニアレルギーの役割を検索するため、気管支喘息児のメサコリン吸入閾値とダニ特異IgE抗体値および血清IgE値との関係を解析する。
3. 気管支喘息の発症におけるダニアレルギー以外の因子の役割を明らかにするために、ダニ特異IgE抗体高値の気管支喘息児群と非喘息児群、ならびにダニアレルギーのない健常児群の3群におけるダニ抗原に対する好塩基球のヒスタミン遊離能、末梢血好酸球数、血清ECP値、血清MBP値およびメサコリンに対する気道反応性を比較検討する。

## 第Ⅱ章 小児気管支喘息におけるダニ特異IgE抗体の病因的役割

### Ⅱ－1 目 的

小児気管支喘息は気道の反応性の亢進に特徴づけられる、自律神経、免疫、感染、生化学、内分泌、心理などの因子が関与する複雑な疾患である<sup>139)</sup>。小児においては、吸入抗原に対する特異IgE抗体値が臨床症状のみならず、その抗原による吸入誘発試験の結果ともよく相関するので、多くの場合アレルギー反応は気管支喘息の発症において重要な役割を果たしていると考えられている<sup>140-145)</sup>。しかし、これまでの疫学的研究からは、環境抗原に対する高いIgE抗体を持っていても、臨床症状の無い人がかなりの数いることが示されている<sup>146,147)</sup>。さらに、はっきりとしたアレルギーのある児においても、気管支喘息発作はしばしば感染、運動、感情、非特異的刺激などの他の誘発因子によって引き起こされる<sup>148)</sup>。したがって気管支喘息の発症にアレルギー反応がどのように関与しているかは明らかではない。

本研究では、小児気管支喘息においてダニアレルギーがどの程度病因的役割を果たしているかを明らかにするために、日本の主要な室内塵ダニ種である *Df* に対する特異IgE抗体の分布を学童一般集団で調べ、*Df* 特異IgE抗体値と気管支喘息の有病率との関係について検討した。

### Ⅱ－2 対象および方法

#### Ⅱ－2－1 対 象

対象は茨城県三和町立仁連小学校および三和東中学校の9～13歳の児童、生徒計892名中、保護者のインフォームドコンセントの得られた722人（男392名、女330名、平均年齢12.2歳）である。

#### Ⅱ－2－2 気管支喘息の診断



ATS-DLD-78C小児用呼吸器症状質問紙（日本語改定版）<sup>149)</sup>に準じ、以下の4項目、すなわち（1）これまでに、胸がゼーゼーとかヒューヒューして、急に息が苦しくなる発作をおこしたことがありますか？（2）これまでに、医師に気管支喘息と言われたことがありますか？（3）その時、ゼーゼーとかヒューヒューして息が苦しかったですか？（4）その様なエピソードは過去2年間に2回以上ありましたか？のすべてに「はい」と答えたものを「気管支喘息」とした。26名が「気管支喘息」と診断された。

### II-2-3 ダニ特異IgE抗体の測定

ダニ特異IgE抗体はSepharose-RAST法で測定した。Wideら<sup>15)</sup>の方法に従って、3mgの凍結乾燥した*Dermatophagoides*を300mg（乾燥重量）のCNBr活性化セファローズ4B（ファルマシア社、スウェーデン）に結合させ不溶化抗原（allergen coupled particles; ACP）とした。ダニ抗原は*Df*虫体抽出物（鳥居薬品株式会社より供与）を使用した。ACPはRAST緩衝液（0.1M  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ - $\text{K}_2\text{HPO}_4$ , pH7.4, 1% Tween20）で懸濁し、最終濃度を20mg/mlに調製した。まず初めに50  $\mu\text{l}$ のACP懸濁液を10×70mmのラジオイムノアッセイ用プラスチック試験管（塩野義製薬、東京）に入れ、その後50  $\mu\text{l}$ の検体血清を加えた。試験管に蓋をして室温で角度60度、20rpmで2時間回転させた。ACPをRAST緩衝液4mlで2000rpm、5分間遠心して洗浄し、これを3回繰り返したのち、200  $\mu\text{l}$ のRAST緩衝液を残して上清を吸引した。最後にACPを混じたRAST緩衝液200  $\mu\text{l}$ を遠心し、上清をさらに径0.4mmの針とストッパーからなる吸引器によりACPを混じたRAST緩衝液50  $\mu\text{l}$ を残して吸引した。次に、ファデバス RASTキット（ファルマシア社）の<sup>125</sup>I標識抗IgE抗体（約2,5000cpm）50  $\mu\text{l}$ を検体血清の入った試験管に加え、16時間室温でインキュベートした。過剰の<sup>125</sup>I標識抗IgE抗体を洗浄液（0.15mol/LのNaCl, 1% Tween 20）で洗浄したのち、洗浄終了液200  $\mu\text{l}$ 中のACPの放射活性を $\gamma$ カウンターで測定した。RASTの測定は二重測定（duplicate）で行い、平均結合率（%binding）はACPに結合したサンプルの放射活性を総放射線活性（total counts）で除し、これを100倍して求めた。RASTの陰性対照検体に2%のヒト血清アルブミン（HSA）を用い

た。RAST陽性と陰性のカットオフポイントは、2 %のHSAによって生じるバックグラウンドの放射線活性の350 %とした。検体の平均結合率 (%binding) がカットオフポイントより高値の場合、RAST陽性とみなした。抗原交叉反応はShibasakiら<sup>150)</sup>のRAST inhibition testにより除外した。

各検体血清の倍々希釈の系列を調製し、RASTを陽性とする最大希釈濃度をダニ特異IgE抗体値とした<sup>21)</sup>。

## II-2-4 統計分析

得られたデータはアップル社製マッキントッシュコンピュータ-LC-IIIを用いStatView 4.1 (Abacus Concept 社, U.S.A.)<sup>151)</sup>により、平均値の差はWilcoxonテストにより検定し、統計処理した。危険率0.05未満をもって有意とした。

## II-3 結果

### II-3-1 気管支喘息患者と非喘息者におけるダニ特異IgE抗体値の比較

722名の一般学童集団のうち26名(男19名、女7名、3.6%)に気管支喘息が認められた。気管支喘息患者と非喘息者でダニ特異IgE抗体値を比較した。表2-1に示すように男女いずれにおいても気管支喘息患者は非喘息者に比較して、ダニ特異IgE抗体値が有意に高値であった。

### II-3-2 ダニ特異IgE抗体値と気管支喘息の有病率との関係

図2-1に対象者722名のダニ特異IgE抗体値の分布を示した。男女別の対象者数が少ないので、ここでは男女を合わせた全例数で検討した。ダニ特異IgE抗体値の分布はダニ特異IgE抗体値陰性とダニ特異IgE抗体値1:128の2つのピークを持つ二峰性の分布を示した。ダニ特異IgE抗体陽性者は722名中179名(25%)に認められた。気管支喘息患者のダニ特異IgE抗体値は1:64から1:2048にわたって分布し、非喘息者

のそれに比べて高値を示した。

図2-2にダニ特異IgE抗体値別にみた気管支喘息の有病率を示した。ダニ特異IgE抗体陰性から1:32の範囲では喘息有病率はゼロであった。ダニ特異IgE抗体値の上昇に伴い喘息の有病率も増加し、ダニ特異IgE抗体値1:2048では100%に達した。したがってダニ特異IgE抗体値に依存したダニアレルギーと気管支喘息発症との関係が認められた。表2-2に示す様に気管支喘息者と非喘息者の間でWilcoxon testによりダニ特異IgE抗体値を比較すると両者の間には有意な差異が認められた ( $p<0.05$ )。

## II-4 考 案

722名の学童のうち気管支喘息患者が3.6%に認められた。これまでのATS-DLDを用いた学童の気管支喘息有病率の調査研究では、呼吸困難のある喘鳴を反復するものが3.3%、喘鳴のみのものが3.9%であったと報告されている<sup>15,2)</sup>。本研究における気管支喘息有病率も従来の報告とほぼ同様であった。気管支喘息の診断はアンケート回答に基づき、喘鳴を伴う反復する呼吸困難のあるものとした。喘鳴は成人ではしばしば慢性気管支炎、慢性閉塞性肺疾患の患者で見られるが、これらの疾患は小児では極めて稀である。さらに小児期では、急性細気管支炎が一般的な喘鳴の原因として認められることがあるが、この疾患は通常1歳未満の乳児に見られる。すなわち学童期の小児において、反復する呼吸困難を伴う喘鳴のエピソードは、気管支喘息に特異的な症状と考えられる。

ダニ特異IgE抗体値の上昇と共に気管支喘息の有病率が増加している所見は、小児気管支喘息の発症がダニ特異IgE抗体値と有意に関係していることを強く示唆している。本研究は茨城県三和町という一地点における児童学童を対象とした横断調査であり、この成績を本邦における普遍的なものとするには限界があるが、このことは小児気管支喘息はダニ抗原に対する特異免疫応答能に依存した疾患であり、ダニ抗原と特異IgE抗体との間のアレルギー反応が気管支喘息の発症に重要な役割を果たしていることを示唆している。

気管支喘息の基本的病態は、抗原刺激だけではなくケミカルメディエーター、刺激物、運動、気候の変化、感染など種々の刺激に対する気道反応性の亢進であると考

えられている<sup>139)</sup>。気管支喘息患者を含めた学童一般集団のダニ特異IgE抗体の分布を示す結果からは、ダニ特異IgE抗体が高値でも実際に気管支喘息を発症するのは4人に1人の割合であることが示された。このことは気管支喘息の発症のメカニズムに、IgE抗体を介したアレルギー反応以外の要因、例えば肥満細胞の数<sup>153)</sup>、肥満細胞のケミカルメディエーターの放出能<sup>154,155)</sup>、メディエーターに対する気管支平滑筋の感受性<sup>50)</sup>さらに気管支平滑筋が本来持っている収縮能などの関与を考慮する必要性を示唆している。また近年、気道炎症は気管支喘息の基本的病態であることが明らかにされている<sup>156,157)</sup>。アレルギー性気管支喘息患者では、抗原曝露によりヒスタミンやメサコリンに対する気道反応性が亢進することが報告されている<sup>118,158)</sup>。ダニは日本における普遍的抗原であり<sup>20)</sup>、ダニによる持続的な曝露が気道の反応性を亢進させ、これがダニアレルギーのある人に対して気管支喘息発症の素因を形成していると推測された。

## Ⅱ-5 小 括

1. 一般学童722名を対象として、ダニ抗原に対する感作状況と気管支喘息の発症との関係について調べた。
2. 気管支喘息は26名（3.6%）に認められた。
3. 気管支喘息の有病率とダニ特異IgE抗体値との間には有意の相関が認められた。
4. 以上のことから気管支喘息の発症は、ダニ抗原に対する特異免疫応答性に依存していることが示唆された。

	男 (n=392)	女 (n=330)	全例 (n=722)
喘息患者 (n=26)	206±203	380±407	404±447
非喘息者 (n=696)	31±115	36±119	33±117

表2-1. 気管支喘息患者と非喘息者におけるダニ特異IgE抗体値 (mean±SD)。

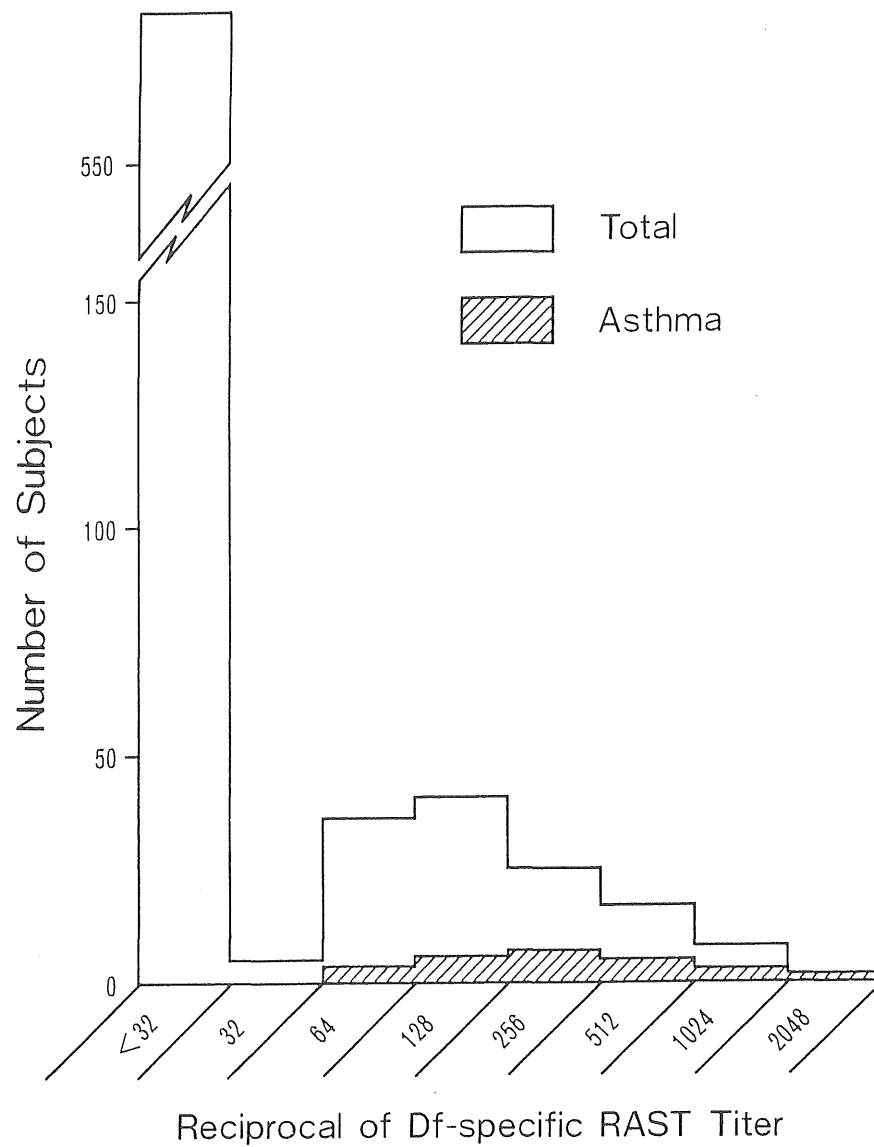


図2-1.一般学童722名におけるダニ特異IgE抗体値の分布。  
気管支喘息患者26名を含む。

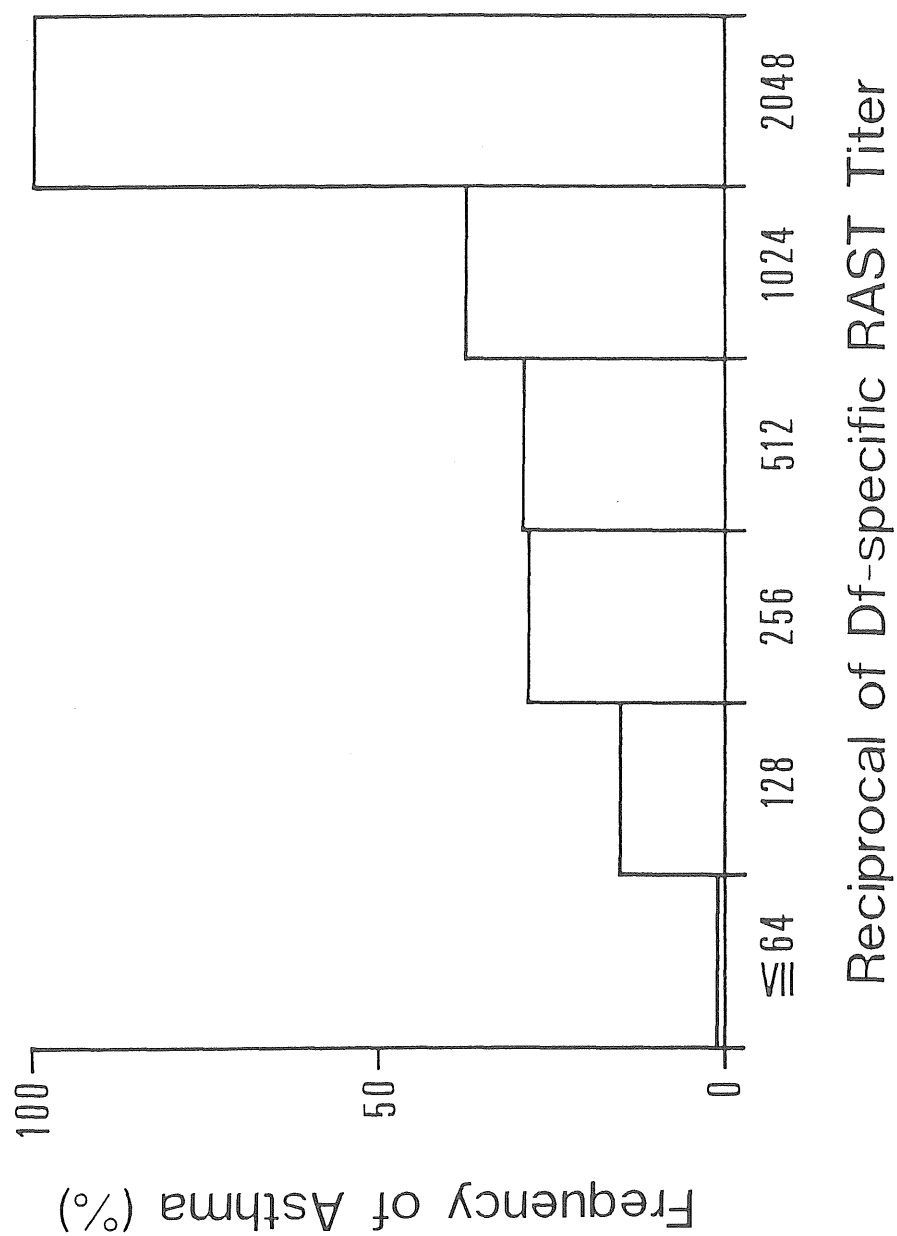


図2-2. ダニ特異IgE抗体値別にみた気管支喘息の有病率

ダニ特異IgE抗体値	例数	喘息患者	非喘息者
≤64	630	4	626
128	41	6	35
256	25	7	18
512	17	5	12
1024	8	3	5
2048	1	1	0
Total	722	26	696

表2-2. 気管支喘息患者と非喘息者のダニ特異IgE抗体値。  
両者の間には有意な差が認められた ( $p<0.001$ )。



### 第Ⅲ章 小児気管支喘息におけるダニ特異IgE抗体値と気道反応性との関係

#### Ⅲ－１ 目 的

前章で、小児気管支喘息の有病率とダニ特異IgE抗体値との間に有意の相関のあることを示し、ダニアレルギーが気管支喘息の重要な発症因子であることを示唆した。

本章では、ダニアレルギーと気道反応性との関係を解明するため、喘息児のダニ特異IgE抗体値、血清IgE値およびメサコリン吸入閾値を測定し、そのデータを解析した。

#### Ⅲ－２ 対象および方法

##### Ⅲ－２－１ 対 象

筑波大学小児科アレルギー外来の患者の中から7～15歳（平均 $10.1 \pm 2.5$ 歳）の気管支喘息児47名（男32名、女15名）を抽出し、喘息群とした。気管支喘息の診断はアメリカ胸部疾患学会の定義<sup>89)</sup>に従った。過去12か月以内に4回以上の呼吸困難を伴う喘鳴のあった患者のみを対象とし、いずれもATS-DLD-78C質問紙による診断では「気管支喘息」に該当する者である。嚥胞性線維症、免疫不全症、線毛機能不全症（Kartagener症候群）および慢性の気管支炎の患者は本研究の検討対象から除外した。検査への薬物の影響を避けるため、過去1か月以内にテオフィリンの静注を必要とするような気管支喘息発作のあったもの、明らかな気道感染のあったものおよび過去2週間以内に吸入または経口副腎皮質ステロイド投与をうけたものは除外した。またクロモグリク酸、ケトチフェン、塩酸アゼラスチン、テオフィリンおよび $\beta$ 刺激剤の投与は検査前12時間以上中止した。

対照群は、気管支喘息や他のアレルギー疾患がなく、検査前1か月以内に気道感染の既往のない8～13歳（平均 $10.5 \pm 1.5$ 歳）の健常児16名（男10名、女6名）である。対照群の肺機能は正常範囲内であった。

喘息群および対照群の小児全例について、本研究に対する両親の同意を得た。

### Ⅲ－２－２ ダニ特異IgE抗体および血清IgEの測定

ダニ特異IgE抗体は、前章で述べたセファローズRAST法<sup>21)</sup>を用いて測定した(Ⅱ－２－３参照)。ダニ抗体はDf(トリイ)を用いた。血清IgE値はファルマシアIgE RIAキットで測定した。

### Ⅲ－２－３ メサコリン 吸入試験

気道反応性はメサコリン吸入試験を用いて測定した。日本アレルギー学会標準法<sup>55)</sup>に従って、まず肺機能検査を行い、 $FEV_{1.0}/FVC \times 100$  (%) が70%以上の場合のみ誘発試験の対象とした。メサコリンの吸入試験はDeVilbiss Model 646 Nebulizer (DeVilbiss社, USA) を用い、空気 5 L/min の流量で行った。最初に生理的食塩水を2分間吸入させ、その後25mg/mlから0.049mg/mlまで倍々希釈した10希釈系列のメサコリン液 (Acetyl- $\beta$ -methylcholine chloride, 和光純薬) を、濃度の低いものから順次吸入させた。各濃度の吸入終了後、直ちに $FEV_{1.0}$ をオートスパイロメータAS300型 (ミナト医科学社, 東京) で測定した。生理食塩水吸入後の $FEV_{1.0}$ を基準として $FEV_{1.0}$ の低下率を計算した。ある濃度のメサコリン液の吸入終了直後の $FEV_{1.0}$ が基準の $FEV_{1.0}$ よりも20%以上低下するか最高濃度 (25mg/ml) のメサコリンを吸入し終わるまで検査を続け、吸入し得た最終希釈濃度を $PC_{20}$ とした。検査後はメサコリン吸入による気流閉塞状態を回復させるためにorciprenaline sulfateを吸入させた。

### Ⅲ－２－４ 統計分析

得られたデータのうちメサコリン吸入閾値 ( $PC_{20}$ )、ダニ特異IgE抗体値、血清IgE値はいずれも対数変換により正規化した後、unpaired t-test、Pearson相関分析を用いて処理し、危険率0.05未満をもって有意とした。

## Ⅲ－３ 結 果

### Ⅲ－３－１ 気管支喘息児と健常児のダニ特異IgE抗体値、血清IgE値および 気道反応性の比較

ダニ特異IgE抗体値、血清IgE値および気道反応性（PC<sub>20</sub>）、を47名の気管支喘息児と16名の健常児で比較した。対象喘息児の70％以上が、通常のRASTキット（ファルマシア社）による検査でDfに対する最大のRAST値を示したので、本研究ではDfに対する特異抗体値を定量化するために各検体血清を倍々希釈し、RASTを陽性にする最大希釈倍率（end-point titer）をもってダニ特異IgE抗体値とした。図3-1に示すように、ダニ特異IgE抗体値は喘息児で420 ± 513倍、健常児で15 ± 34であり、血清IgE値は喘息児で845 ± 719IU/ml、健常児で151 ± 230IU/mlであった。PC<sub>20</sub>値は気管支喘息児で0.8 ± 1.4mg/ml、健常児で20.0 ± 8.1mg/mlであった。気管支喘息児は健常児に比較して有意に高いダニ特異IgE抗体値および血清IgE値と有意に低いPC<sub>20</sub>を示した（ $p < 0.01$ ）。

### Ⅲ－３－２ 気管支喘息児におけるダニ特異IgE抗体値ならびに血清IgE値と 気道反応性との関係

喘息児47名について、ダニ特異IgE抗体値・血清IgE値とPC<sub>20</sub>との関係を調べた。図3-2に示す様に、ダニ特異IgE抗体値・血清IgE値とPC<sub>20</sub>の間には有意の相関は認められなかった（ $r=0.04, p > 0.1$ ）。ダニ特異IgE抗体値が高値（ $\geq 32$ ）の43名について同様にダニ特異IgE抗体値とPC<sub>20</sub>との関係を調べたが、両者の間にも有意の相関はみられなかった（ $r=0.19, p > 0.1$ ）。また、図3-3のように、血清IgE値とPC<sub>20</sub>の間にも有意の相関は認められなかった（ $r=0.03, p > 0.1$ ）。一方、ダニ特異IgE抗体値と血清IgE値との間には正の相関が認められた（図3-4）（ $r=0.76, p < 0.01$ ）。

### Ⅲ－４ 考 案

成人の気管支喘息患者のアレルギーと気道過敏性との関係に関して、Cockcroft

ら<sup>159)</sup> はヒスタミン気道反応性は吸入抗原に対する皮膚テスト反応性とよく相関したと報告している。Peatら<sup>160)</sup> も喘息児において、ヒスタミンに対する気道反応性の強さが、アレルゲン皮膚反応の数や大きさと相関すると報告している。一方、BryantとBurns<sup>161)</sup> は、成人のアトピー型、非アトピー型気管支喘息患者の間に、メサコリンに対する気道反応性に有意な差が認められなかったという。Neijensら<sup>162)</sup> もヒスタミン吸入閾値と抗原刺激による好塩基球からのヒスタミン遊離能との間に有意な相関のないことを示した。著者らの結果は、喘息児は健常児に比較し、ダニ特異IgE高値と気道過敏性の亢進を示すが、ダニアレルギーの強さと気道過敏性の程度の間には有意の相関がないことを示した。このことは、ダニアレルギーと気道過敏性は単純な因果関係にはないことを示唆しているものと考えられた。

喘息児47名の血清IgE値とダニ特異IgE抗体値との間には有意の相関が認められた。寄生虫感染のみられない我が国においては、ダニは花粉などの他のアレルゲンに比してはるかに強く普遍的な環境抗原であるので<sup>20)</sup>、ダニに対する特異IgE抗体は総IgE値を上昇させるのに大きく貢献していることを意味しているように思われる。

アトピー型気管支喘息患者が実験的に抗原に曝露されることによりメサコリンやヒスタミンに対する気道反応性が亢進することが報告されている<sup>118,159,163)</sup>。また、アトピー型気管支喘息患者で、花粉の飛散する季節に気道反応性の亢進が観察されとの報告もある<sup>164,165)</sup>。一方、Platts-Millsら<sup>119)</sup> は気管支喘息患者からダニ抗原を遮断することによって気道反応性が低下することを報告した。これらのことから持続的なダニ抗原曝露は、ダニ抗原に感作されている小児の気道反応性を亢進させ、それが気管支喘息の発症因子となっている可能性はありうるように思われる。しかし、本研究では、気道反応性の程度はダニアレルギーの強さとは相関しないことが明らかにされた。この結果は、アトピー型喘息患者の気道過敏性亢進の成因にダニアレルギー以外の因子が深く関与していることを示唆している。

本研究では、ダニ特異IgE抗体値と気道反応性(PC<sub>20</sub>)との間に明らかな相関がないという結果が出たが、これのみで気道過敏性へのダニアレルギーの関与を否定するものではない。何故ならば本研究では、気管支喘息児の大多数において、気道反応性の亢進とダニ抗原に対する感作が共におこっており、一方、健常児では気道過敏性もダニアレルギーもみられなかったからである。

今後アレルギー性気管支喘息児の気道過敏性以外の因子、たとえば気管支におけるマスト細胞の数の違い<sup>153)</sup>、それらの細胞の固着しているIgE抗体の密度の違いや化学伝達物質放出能の違い<sup>166)</sup>、化学伝達物質に対する気管支平滑筋の反応性の違い<sup>50)</sup>などを詳しく検討していく必要があると思われた。また最近T細胞によって引き起こされる気道炎症が気管支喘息の基本的病態であることが明らかにされつつある<sup>99,103,167,168)</sup>。特に、T細胞から遊離されるサイトカインは一方ではIgE産生を亢進させ、他方では好酸球性炎症を介して気道過敏性を亢進させると考えられている。さらに気道炎症が気管支平滑筋の伸縮性そのものを変化させることも示唆されており<sup>113,169)</sup>、好酸球性炎症を含めた気道炎症と気道過敏性に関するより詳細な研究が必要であると考えられる。

気管支喘息は同一家族内に発症し遺伝素因に基づく疾患であると考えられている。著者らの結果はダニアレルギーと気道過敏性の亢進が同時に起こり、しかもダニ特異IgE抗体値とメサコリン吸入閾値が相関しないことを示した。このことは、ダニアレルギーを決定する遺伝子と気道過敏性を決定する遺伝子は機能的には独立しているが互いに連鎖している可能性も推測される。

### Ⅲ-5 小 括

1. 気管支喘息児47名、健常児16名のダニ特異IgE値ならびに血清IgE値とメサコリン吸入閾値(PC<sub>20</sub>)との関係を検討した。
2. 喘息児は健常児に比較してダニ特異IgE抗体値、血清IgE値がともに高値であり、PC<sub>20</sub>が有意に低値であった。
3. 喘息児におけるダニ特異IgE抗体値、血清IgE値のいずれもPC<sub>20</sub>と有意の相関を示さなかった。

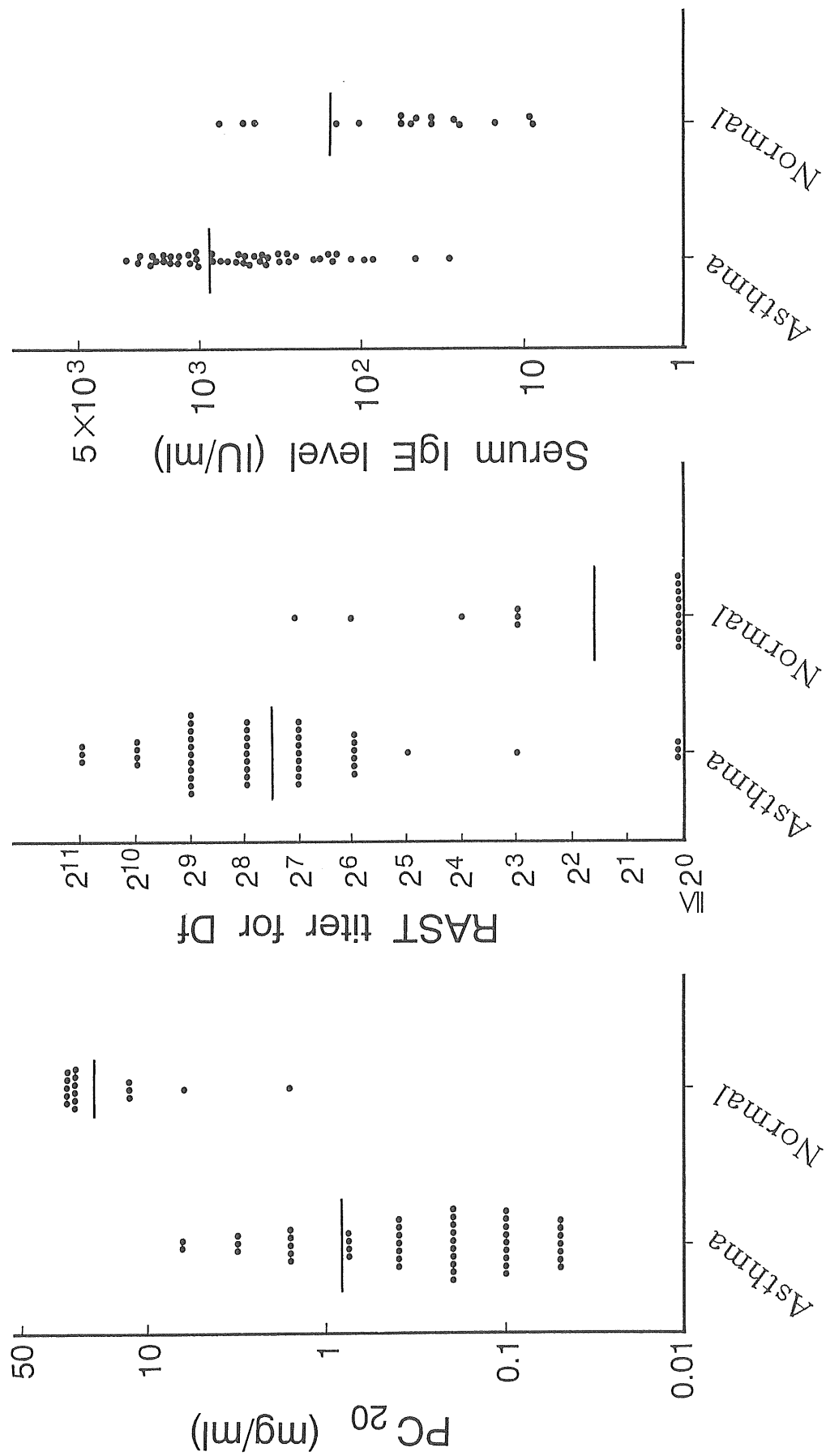


図3-1. 47名の喘息児と16名の健常児におけるダニ特異IgE抗体値、血清IgE値およびPC<sub>20</sub>。

各図における横線は幾何学的平均値を示す。いずれも有意差が認められた (p<0.01)。

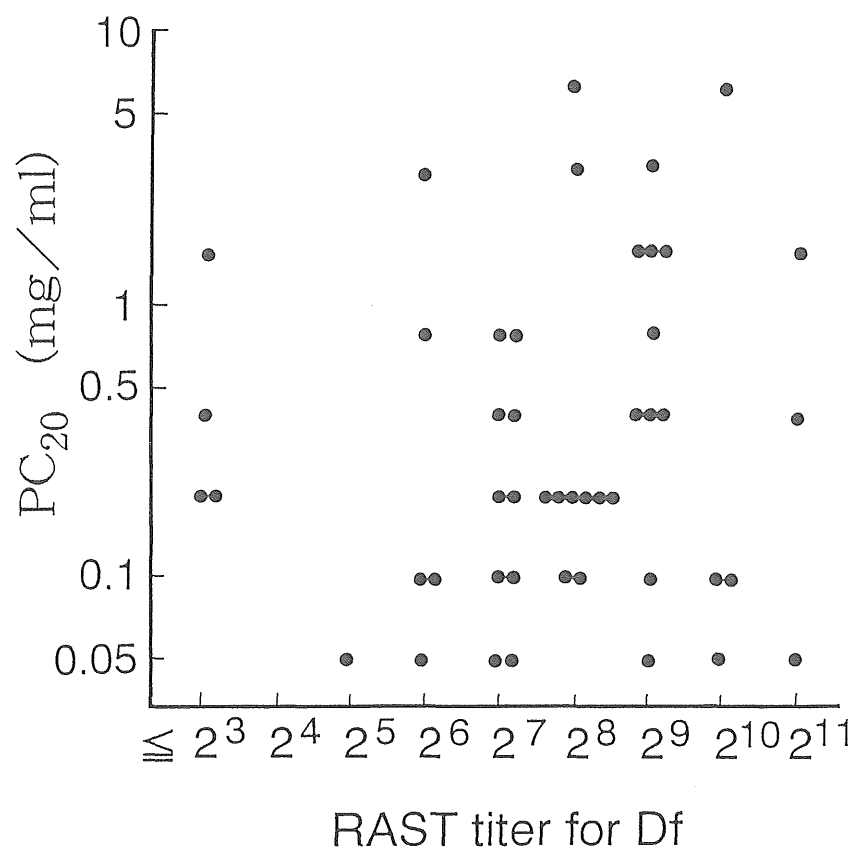


図3-2. ダニ特異IgE抗体値とPC<sub>20</sub>との関係。  
両者の間には有意な 関係は認められなかった  
( $p>0.1$ ) 。

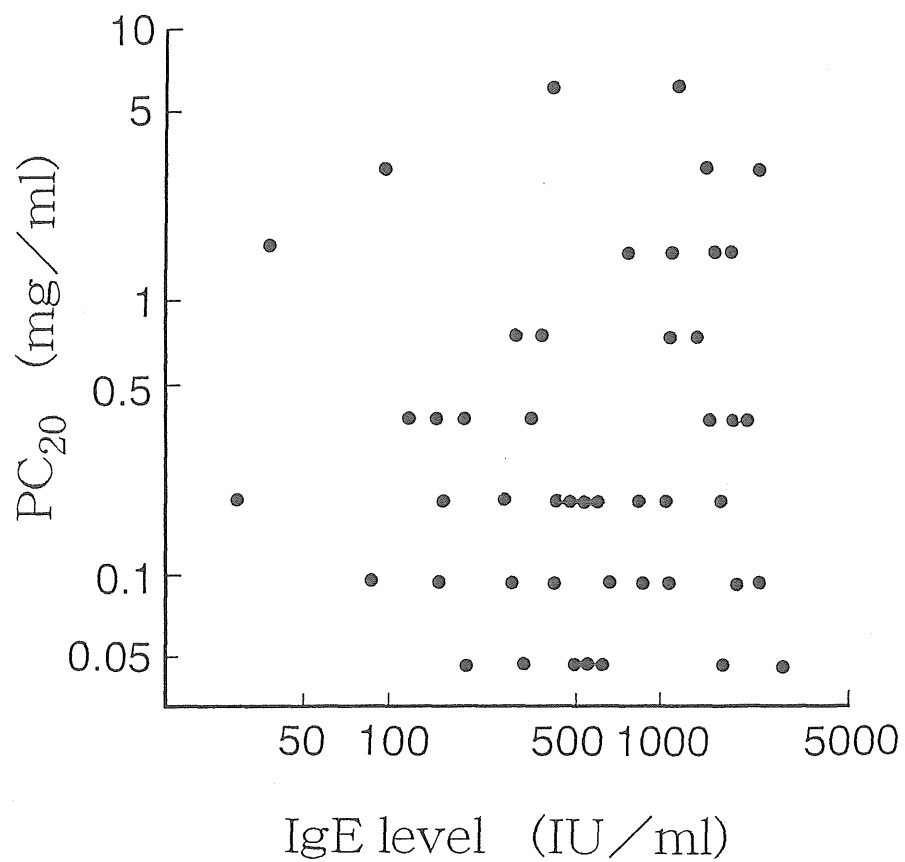


図3-3. 血清IgE値とPC<sub>20</sub>との関係。

両者の間には有意な 関係は認められなかった  
( $p>0.1$ )。



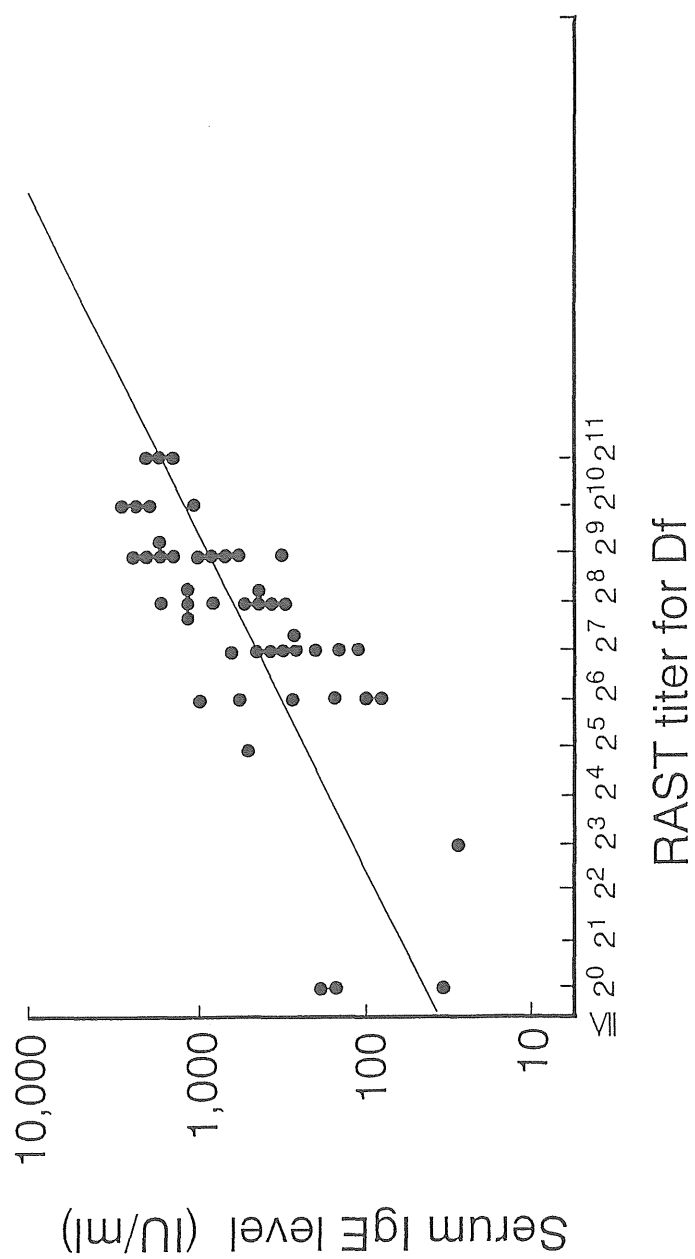


図3-4. ダニ特異IgE抗体値と血清IgE値との関係。  
両者の間には有意の相関が認められた ( $p < 0.01$ )。

## 第Ⅳ章 ダニアレルギーのある喘息児と非喘息児およびアレルギーのない 健常児における好塩基球ヒスタミン遊離能、末梢血好酸球数、 血清ECP、血清MBPと気道反応性との関係

### Ⅳ－１ 目 的

ダニや花粉などの一般的吸入抗原による感作が、喘息症状の全くない者においても認められることが疫学的研究により示されている<sup>146,147)</sup>。筆者らは本稿の第Ⅱ章で、ダニ特異IgE抗体が高値の一般集団学童のうち気管支喘息を発症するのはその5分の1にすぎないことを明らかにした。この事実はアレルギー性気管支喘息においてもアレルギー以外の因子がその発症に強く関与していることを示唆している。

近年、気道組織の好酸球を中心とした炎症反応が、気管支喘息の病態に大きく関与していることが明らかにされつつあり、小児気管支喘息においても気道炎症は重要な役割を担っているものと考えられている。本章では、アレルギー性喘息の病態生理学的な発症機序、特にケミカルメディエーターや好酸球性炎症反応などのアレルギー以外の因子の役割を明らかにすることを目的として、ダニ特異IgE抗体高値の喘息児と非喘息児ならびにアレルギーのない健常児の3群におけるダニ抗原に対する好塩基球のヒスタミン遊離能、末梢血好酸球数、血清ECP、血清MBPおよび気道反応性を比較検討した。

### Ⅳ－２ 対象および方法

#### Ⅳ－２－１ 対 象

対象を3群に分け、ダニアレルギーを有する喘息児36例（男25例、女11例、11.1歳±2.5歳）をⅠ群、ダニアレルギーはあるが喘息のない非喘息児36例（男23例、女13例、11.7歳±1.8歳）をⅡ群、ダニアレルギーも喘息症状も全くない健常児21例（男12例、女9例、12.5歳±1.5歳）をⅢ群とした。

Ⅰ群は筑波大学小児科アレルギー外来の喘息児で、ステロイド薬使用歴がなく、ダ

ニ特異IgE抗体値が64倍以上を示した者の中から無作為に選び、インフォームドコンセントを得た36名とした。

Ⅱ群、Ⅲ群はいずれも茨城県三和町立仁連小学校および三和東中学校の児童、生徒で、本稿第Ⅱ章の対象の一部であり、再度両親のインフォームドコンセントを得て研究を行った。ATS-DLD-78Cアンケートのすべてに「はい」と答えたものを「気管支喘息」、4項目すべてに「いいえ」と答えたものを「非喘息」、それ以外を「気管支喘息疑い」とした。

第Ⅱ章の研究で対象全員のダニ特異IgE抗体が定量されているので、そのRAST値を参考にして「非喘息」者でダニ特異IgE抗体値64倍以上を示す者44名を選び、詳細な問診と診察を行って湿疹、鼻アレルギーなどの症状のない36名をⅡ群とした。

ダニRAST値陰性でなおかつ前述の分類で「非喘息」とされ、さらに問診と診察により湿疹、鼻アレルギーなどの症状を有さない21名をⅢ群とした。

各群の年齢分布に差はなかった。Ⅰ群、Ⅱ群ではダニ特異IgE抗体値は共に208倍(64～1024倍)、Ⅲ群は陰性であった。

#### Ⅳ－2－2 ダニ特異IgE抗体および血清IgEの測定

ダニ特異IgE抗体は、前章で述べたセファローズRAST法<sup>21)</sup>を用いて測定した(Ⅱ－2－3参照)。ダニ抗体はDf(トリイ)を用いた。血清IgE値はファルマシアIgE RIAキットで測定した。

#### Ⅳ－2－3 ダニ抗原刺激による好塩基球ヒスタミン遊離能の測定

白血球のヒスタミン遊離能はShibasakiらの方法で測定した<sup>170)</sup>。EDTA-2Naで抗凝固処理された末梢血液をFicoll-Paque (Pharmacia社, Sweden) で分離した。好塩基球を含む単核細胞を取りだし、4℃のHEPES緩衝液(125mM NaCl, 5 mM KCl, 20mM HEPES, 0.009% glucose, pH 7.4) で2回洗浄し、Ca<sup>2+</sup> 1mMとMg<sup>2+</sup> 1mMを含んだHEPES-CM 緩衝液で懸濁した。白血球懸濁液(5×10<sup>6</sup>/ml)を1.0 cm × 7.5 cmのプラスチック試験管に0.2mlずつの3本に取分けた。37℃30

分間、細胞のプレインキュベーションの後に0.02mlの10倍ずつに段階希釈されたDf抗原（1mg/ml）を検体チューブに加え、さらに45分間時々攪拌しながら同じ温度でインキュベーションを行った。インキュベーション終了後、細胞を含んだチューブは直ちに氷冷し、すみやかに450g（1,200 rpm）4℃で5分間遠心し、0.1mlの上清をヒスタミン測定用に取り出した。対照のヒスタミン遊離は細胞を緩衝液単独でインキュベーションして決定した。白血球の総ヒスタミン含有量は3%の過塩素酸で処理した細胞懸濁液で測定した。

ヒスタミンはradioimmunoassay kit ‘Histamine’（Immunotech社,フランス）を用いて測定した。

好塩基球のヒスタミン遊離率（%HR）は以下の計算式により求めた。

$$\%HR = \frac{\text{experimental HR} - \text{spontaneous HR}}{\text{total histamine} - \text{spontaneous HR}} \times 100$$

異なる抗原濃度による白血球の%HRを対数紙にプロットし、50%ヒスタミン遊離を引きおこすDf抗原濃度をグラフから読取り、HR<sub>50</sub>として表した。

#### IV-2-4 末梢血好酸球数の測定

末梢血好酸球数（細胞数/mm<sup>3</sup>）は、エオジン溶液で血液を希釈しBurker-Turk型計算板を用いて直接法で算定する通常の検査方法で行った。

#### IV-2-5 血清ECPの測定

ECPの血清濃度は特異的RIAキット（Pharmacia, Sweden）<sup>171)</sup>を用いて測定した。シリコンコートガラス製試験管に採取した血液を60±10分間室温に放置後、遠心分離し、血清を-20℃で保存した。ECPの測定はduplicateで行った。まずシオノギチューブに検体血清50μlをとり、ついで各試験管にヨウ化ヒトECP（<sup>125</sup>I）50

$\mu$ l、ECP抗血清（抗ECP家兎抗体）50  $\mu$ lを加えた。これを15～30℃で3時間インキュベートしたのち、第二抗体懸濁液（抗家兎IgGヒツジ抗体）2mlを添加した。さらに15～30℃で30分間インキュベートし、1500rpm10分間遠心分離し、上清を吸引して $\gamma$ カウンターで計数率を測定し、キットの標準ECPより作成した検量曲線から検体の血清ECP濃度を算定した。

#### IV-2-6 血清MBPの測定

血清MBPは、サンドイッチELISA法により測定した<sup>172)</sup>。慢性骨髄性白血病細胞株から精製したBone-marrow proteoglycan (BMPG)のアミノ酸配列はpro-MBPのそれと同一のものを含むことが明らかにされている<sup>173-175)</sup>ので、MBPは抗BMPG抗体を用いて測定した。100  $\mu$ lの抗BMPGモノクローナル抗体で96-well microtitre plates (Nunc, Roskilde, Denmark)をcoatingした。その後wellを0.05% polyoxyethylene sorbitan monolaurate (Tween 20 : Sigma)を含んだ150mM NaClで3回洗浄したのち、200  $\mu$ lの20mM Tris-HCl, 500mM NaCl, pH7.4で調製した0.1% BSAで60分間blockした。3回洗浄後、100  $\mu$ lの標準MBPか1%BSA, 20mM Tris-HCl, 500mM NaCl, pH7.4で5～500倍に希釈された血清検体と60分間インキュベートした。すべての検体はtriplicateで測定され、結果は平均値で表記された。検量曲線用の標準MBPは2、4、8、16、32、64 ng/mlと倍々希釈された。洗浄後100  $\mu$ lのビオチン化19-E-7抗体でインキュベートした（2  $\mu$ g/ml, 60 min, 37℃）。5回洗浄後100  $\mu$ l horseradish peroxidase-avidin D (Vector Laboratories Inc., Burlingame, Calif.) , (0.1  $\mu$ g/ml)を加え30分間インキュベートした。洗浄後、substrate O-phenylenediamine (OPD : Sigma)を加え20分間インキュベートし、1N HCl (100  $\mu$ l/well)で酵素反応を停止させ、Titertek Multiskan MCC/340 (Flow Laboratories Inc., McLean, Va.)を用いて492nmで吸光度を測定した。標準MBP rangeの2-64 ng/mlの濃度においては、標準MBP濃度とOD492の間には直線的な相関が認められることが知られているので、標準MBPにより求めた検量線より検体血清の血清MBP値を求めた。

#### IV-2-7 メサコリン 吸入試験

メサコリン 吸入試験は前章で述べたように、日本アレルギー学会標準法<sup>55)</sup>に従った(III-2-3 参照)。

#### IV-2-8 統計分析

得られたデータはAbacus Concepts, StatView. v.4.0 (Abacus Concepts 社, USA)<sup>151)</sup>により統計処理した。各パラメータのグループ間の比較はKruskal Wallis test 及びunpaired t-testを行った。また異なるパラメータ間の相関はPearsonの相関係数を求めて分析を行った。いずれも有意水準0.03未満をもって有意とした。

### IV-3 結 果

#### IV-3-1 ダニ特異IgE抗体値・血清IgE値と呼吸機能

表4-1に、対象群の例数、診断、年齢、ダニ特異IgE抗体値、血清IgE値およびスパイロメータのデータを一括して示した。I群の対象は、II群のダニ特異IgE抗体値にあわせて選ばれたので、両群は同じダニ特異IgE抗体値の分布を示している。血清IgE値はI群およびII群で高値を示しているが、両者の間には有意差は認められなかった( $p>0.05$ )。III群の血清IgE値は低値であった。呼吸機能を3つのグループで比較してみると、FVCとPEFRは3群間で有意差は認められなかった。一方、I群におけるFEV<sub>1.0</sub> ( $87.3\pm 14.3\%$ )はIII群のそれ ( $99.2\pm 9.1\%$ )よりも有意に低値であった( $p<0.05$ )。しかし、I群とII群およびII群とIII群との間には有意な差は認められなかった( $p>0.05$ )。

#### IV-3-2 ダニ抗原刺激による好塩基球ヒスタミン遊離能の3群間の比較

図4-1に示すとおり、50%ヒスタミン遊離を引き起こすダニ抗原濃度 ( $HR_{50}$ ) はⅠ群とⅡ群ではそれぞれ  $0.019 \mu\text{g/ml}$  ( $0.001 \sim 0.1$ ) および  $0.032 \mu\text{g/ml}$  ( $0.001 \sim 0.1$ ) と低値であり、Ⅲ群では  $100 \mu\text{g/ml}$ 以上と高値であった。Ⅰ群とⅡ群の間には有意な差は認められなかった ( $p > 0.05$ )。

#### Ⅳ-3-3 末梢血好酸球数、血清ECP値および血清MBP値

気道炎症を反映すると考えられる3つの好酸球パラメータ、末梢血好酸球数、血清ECP値および血清MBP値を3群間で比較検討した。図4-2に示すとおりⅠ群、Ⅱ群、Ⅲ群の末梢血好酸球数はそれぞれ  $731 \pm 497/\text{mm}^3$ 、 $307 \pm 158/\text{mm}^3$ 、 $131 \pm 74/\text{mm}^3$ で、Ⅰ群はⅡ群より ( $p < 0.01$ )、Ⅱ群はⅢ群より有意に高値であった ( $p < 0.01$ )。

Ⅰ群、Ⅱ群、Ⅲ群の血清ECP値は、図4-3のように、それぞれ  $15.5 \pm 10.2 \mu\text{g/l}$ 、 $8.6 \pm 7.0 \mu\text{g/l}$ 、 $4.7 \pm 1.7 \mu\text{g/l}$ で、Ⅰ群はⅡ群より ( $p < 0.01$ )、Ⅱ群はⅢ群より有意に高値であった ( $p < 0.01$ )。

図4-4に3群の血清MBP値を示した。Ⅰ群、Ⅱ群、Ⅲ群の血清MBP値はそれぞれ  $29.8 \pm 11.8 \text{ ng/ml}$ 、 $27.9 \pm 15.1 \text{ ng/ml}$ 、 $13.0 \pm 7.4 \text{ ng/ml}$ で、Ⅰ群およびⅡ群はⅢ群に比べて有意に高値であった ( $p < 0.01$ )。しかし、Ⅰ群とⅡ群の間には有意な差は認められなかった ( $p > 0.1$ )。

#### Ⅳ-3-4 気道反応性

図4-5にメサコリンに対する3群の気道反応性 ( $PC_{20}$ ) を示した。Ⅰ群、Ⅱ群およびⅢ群の対象者における  $PC_{20}$  の平均値 (範囲) はそれぞれ  $0.41$  ( $0.0049 \sim 12.5$ )、 $6.49$  ( $0.195 \sim 25$ )、 $20.5$  ( $6.25 \sim 25$ )  $\text{mg/ml}$ で、Ⅰ群はⅡ群より有意に低値であり ( $p < 0.01$ )、Ⅱ群はⅢ群よりも有意に低値であった ( $p < 0.01$ )。Ⅱ群36名中15名に  $PC_{20} 12.5 \text{ mg/ml}$ 未満の反応性の亢進が認められたが  $0.098 \text{ mg/ml}$ 以下の者はいなかった。すなわち、ダニアレルギーのある非喘息児 (Ⅱ群) は大部分がメサコリンに対する気道反応性を持っていないが、あった場合でもダニアレルギーのあ

る喘息児（Ⅰ群）に比較して気道反応性の亢進は軽度であった。

#### Ⅳ－３－５ ダニアレルギーのある気管支喘息児と非喘息児および健常児における好酸球性炎症の指標と気道反応性

図4－6、図4－7にⅠ群における好酸球性炎症の指標とした末梢血好酸球数、血清ECP値および血清MBP値と気道反応性（PC<sub>20</sub>）との関係を示した。PC<sub>20</sub>と末梢血好酸球数（ $r=0.16, p>0.1$ ）、PC<sub>20</sub>と血清ECP値（ $r=-0.09, p>0.1$ ）の間には有意の相関は認められなかった。PC<sub>20</sub>と血清MBP値の間にも有意の相関は認められなかった。（ $r=0.33, p=0.048$ ）。

図4－8、図4－9にⅡ群の末梢血好酸球数、血清ECP値、血清MBP値と気道反応性（PC<sub>20</sub>）との関係を示した。PC<sub>20</sub>と末梢血好酸球数（ $r=-0.48, p<0.01$ ）、PC<sub>20</sub>と血清ECP値（ $r=-0.49, p<0.01$ ）およびPC<sub>20</sub>と血清MBP値（ $r=-0.38, p=0.023$ ）のいずれの間にも有意の相関が認められた。PC<sub>20</sub>とダニ特異IgE抗体値、PC<sub>20</sub>とHR<sub>50</sub>、ダニ特異IgE抗体値と末梢血好酸球数あるいはダニ特異IgE抗体値と血清ECP値のいずれの間にも有意の相関は認められなかった。

#### Ⅳ－４ 考 案

1977年、Conroy、Lichtensteinら<sup>176)</sup>は好塩基球抗IgE抗体や化学的な刺激によるメディエーター遊離能には個体差があることを示し、この現象を“basophil releasability”と呼んだ。本研究においては、ダニ特異IgE抗体が同じレベルにある喘息児と非喘息児の間においてはダニ抗原による好塩基球ヒスタミン遊離能に有意差は認められなかった。この所見は“basophil releasability”はアレルギー性喘息患者とアレルギーはあっても喘息を発症しない者との差異を決定づける要因ではないことを示唆しているように思われる。

気道反応性の亢進は気管支喘息に普遍的にみられる現象であるが、一部の小児では気管支喘息症状がないにもかかわらず軽度～中等度の気道反応性の亢進が認められることが知られている<sup>177,178)</sup>。本研究の結果ではダニアレルギーのある非喘息児



の36名中15名にメサコリン吸入閾値の低下が認められ、その平均値はダニアレルギーのある喘息患児と健常児の中間にあることが示された。また健常児では、ほぼ全例で気道反応性の亢進は認められなかった。この結果は、小児の気道反応性の亢進にダニアレルギーが密接に関与していることを示唆している。

成人のアトピー型気管支喘息患者における実験的抗原曝露がヒスタミンやメサコリン吸入に対する気道反応性を亢進させることが報告されている<sup>118,158)</sup>。また、成人のアトピー型喘息患者において、長期間の抗原回避により気道過敏性を減弱させることができたという報告もある<sup>119)</sup>。Dfは本邦ではごく一般的な抗原であるので<sup>20)</sup>、ダニアレルギーを持つ小児における持続的な家ダニ抗原への曝露が気道反応性の亢進を引きおこし、これらの児において気管支喘息の発症に関与していることが推測される。

Verdianiら<sup>179)</sup>は、ダニアレルギーのある通年性のアレルギー性鼻炎患者では、花粉アレルギーによる季節性のアレルギー性鼻炎患者よりも気道反応性が亢進する頻度が高いことを報告し、気道過敏性の獲得には花粉アレルギーよりもダニアレルギーが重要な因子であることを強調した。

近年、気道の炎症は気管支喘息の病因として重要な役割を担っていることが示唆され、とくに好酸球と含有される顆粒蛋白はこの気道炎症の形成に大きく寄与していると考えられている<sup>103,112,168,180)</sup>。そのうちECPは好酸球特異顆粒のmatrixに存在し、分子量21KDaの塩基性蛋白である。また、MBPは好酸球特異顆粒のcrystalloïd coreを形成する分子量14KDaの強塩基性の蛋白である。いずれも寄生虫殺傷作用、殺菌作用などの他に気道粘膜などの正常組織を傷害することが明らかにされ、気管支喘息におけるアレルギー性炎症の惹起、増幅に関与し、好酸球のエフェクター機能を担っていると考えられている<sup>181)</sup>。また血清ECP値は気管支喘息や他のアレルギー性疾患における気道炎症の指標としてその有用性が広く認められている<sup>182,183)</sup>。本研究では、末梢血好酸球数および血清ECP値はダニアレルギーのある喘息患児で最も高値であり、健常児では非常に低値であり、ダニアレルギーのある非喘息患児ではその中間の値を示していたことから、ダニアレルギーと密接に関与して好酸球性炎症はおこるが、さらにその炎症の程度の差が気管支喘息発症に深く関与していると推測された。

最近、Djukanovicら<sup>85)</sup>は成人のアトピー型気管支喘息患者、アレルギーはあるが喘息症状の無い非喘息者および健常者の気道の組織病理所見の違いを検索し、アレルギーのある非喘息者の粘膜下の好酸球の浸潤の程度は、アトピー型気管支喘息患者と健常者の中間に位置していることを明らかにした。筆者らの研究結果はこの報告を支持するものであった。しかし、Djukanovicらが対象としたダニアレルギーのある非喘息者は喘息患者に比して血清IgE値も低い症例で、喘息以外のアレルギー疾患に罹患している者も含んでいた。本研究で対象としたダニアレルギーのある非喘息児は、アレルギー性喘息患児と同程度にダニ特異IgE抗体値、血清IgE値が高値であつても関わらず喘息その他のアレルギーの症状が全く認められなかった例である。このことから、気道炎症の強さがアレルギーの程度と単純には相関しない現象であることが示唆されているように思われた。

成人の気管支喘息患者においては、末梢血好酸球数と気道過敏性の間には有意の相関があることが報告されている<sup>120,184)</sup>。本研究の成績ではダニアレルギーのある喘息児では末梢血好酸球数とPC<sub>20</sub>、血清ECP値およびMBP値とPC<sub>20</sub>の間に明らかな相関は認められなかった。一方、ダニアレルギーのある非喘息児では末梢血好酸球、血清ECPおよびMBPとPC<sub>20</sub>は有意の相関を示した。この差異については二通りの説明が可能である。まず第1は気管支喘息児における気道反応性の亢進は内因性のものであり、気管支平滑筋の収縮性の亢進を反映しており気道炎症とは無関係な現象であるが、非喘息者における気道反応性の亢進は炎症により二次的に生じた現象とする解釈である。第2の説明は、気道炎症はその程度に応じてある程度まで気道反応性を亢進させるが、その炎症がある閾値をこえ、喘息症状が出現する程強い気道反応性の亢進が引き起こされると、もはや気道反応性は気道炎症の程度を反映しなくなってしまうという解釈である。

気道反応性の亢進は気管支喘息発症の潜在的に最も危険な因子であることが示唆されている<sup>177,178)</sup>。筆者らは本研究対象の36名のダニ特異IgE抗体値の高い非喘息児を約1年半経過観察しているが、喘息発症を疑わせる症状が出現した者はまだいない。

アレルギーと気道炎症および気道過敏性の間における生物学的な関係について、今後さらに検討する必要があると考えられた。

#### IV-5 小 括

1. ダニ特異IgE抗体値の高い気管支喘息児36名（Ⅰ群）、ダニ特異IgE抗体値の高い非喘息児36名（Ⅱ群）、ダニRAST値陰性の健常児21名（Ⅲ群）における、ダニ抗原刺激による好塩基球ヒスタミン遊離能、末梢血好酸球数、血清ECP値、血清MBP値およびメサコリンに対する気道反応性を比較検討した。
2. 好塩基球からの50%のヒスタミン遊離（HR<sub>50</sub>）を引きおこすダニ抗原量には、Ⅰ群とⅡ群の間で有意な差は無かった（ $p>0.05$ ）。
3. 末梢血好酸球数および血清ECP値はともにⅠ群で最も高く、Ⅲ群で最も低かった。Ⅱ群ではその中間に位置していた。また、3群間には有意差が認められた（ $p<0.01$ ）。
4. 血清MBP値は、Ⅰ群、Ⅱ群ともにⅢ群に比較して有意に高値であったが、Ⅰ群とⅡ群の間には有意差は認められなかった。
5. PC<sub>20</sub>の平均値はⅠ群で最も低く、Ⅱ群でその中間、Ⅲ群で最も高かった。3群間で有意差が認められた（ $p<0.01$ ）。
6. Ⅱ群においてはPC<sub>20</sub>と末梢血好酸球数（ $r=-0.48, p<0.01$ ）、PC<sub>20</sub>と血清ECP値（ $r=-0.49, p<0.01$ ）およびPC<sub>20</sub>と血清MBP値（ $r=-0.38, p=0.023$ ）との間に有意な相関が認められたが、Ⅰ群ではいずれの間にも明らかな相関は見られなかった。
7. 好酸球性炎症はダニアレルギーと密接に関与し、さらにその炎症の程度が気管支喘息の発症に深く関与していると推測された。

# CHARACTERISTICS OF STUDY SUBJECTS

	I	II	III
Subject n	36	36	21
Diagnosis	Asthmatics	Nonasthmatics	Nonasthmatics
Age (year) *	11.1±2.5	11.7±1.8	12.5±1.5
Df-RAST titer **	207.1 (64-1024)	207.1 (64-1024)	Negative (<1)
serum IgE (IU/ml) **	559 (83-2940)	742 (121-4755)	33 (9-175)
FVC (%pred) *	97.1±12.2	95.4±13.6	98.2±9.2
PEFR (%pred) *	96.5±12.5	97.5±17.3	104.1±14.4
FEV <sub>1.0</sub> (%pred) *	87.3±14.3 †	94.8±12.3	99.2±9.1 †

\* Data presented as mean±SD.      \*\* Data presented as geometric mean and range in parentheses.

† Difference was significant between group 1 and 3 by unpaired t test ; p<0.05

(表4-1)

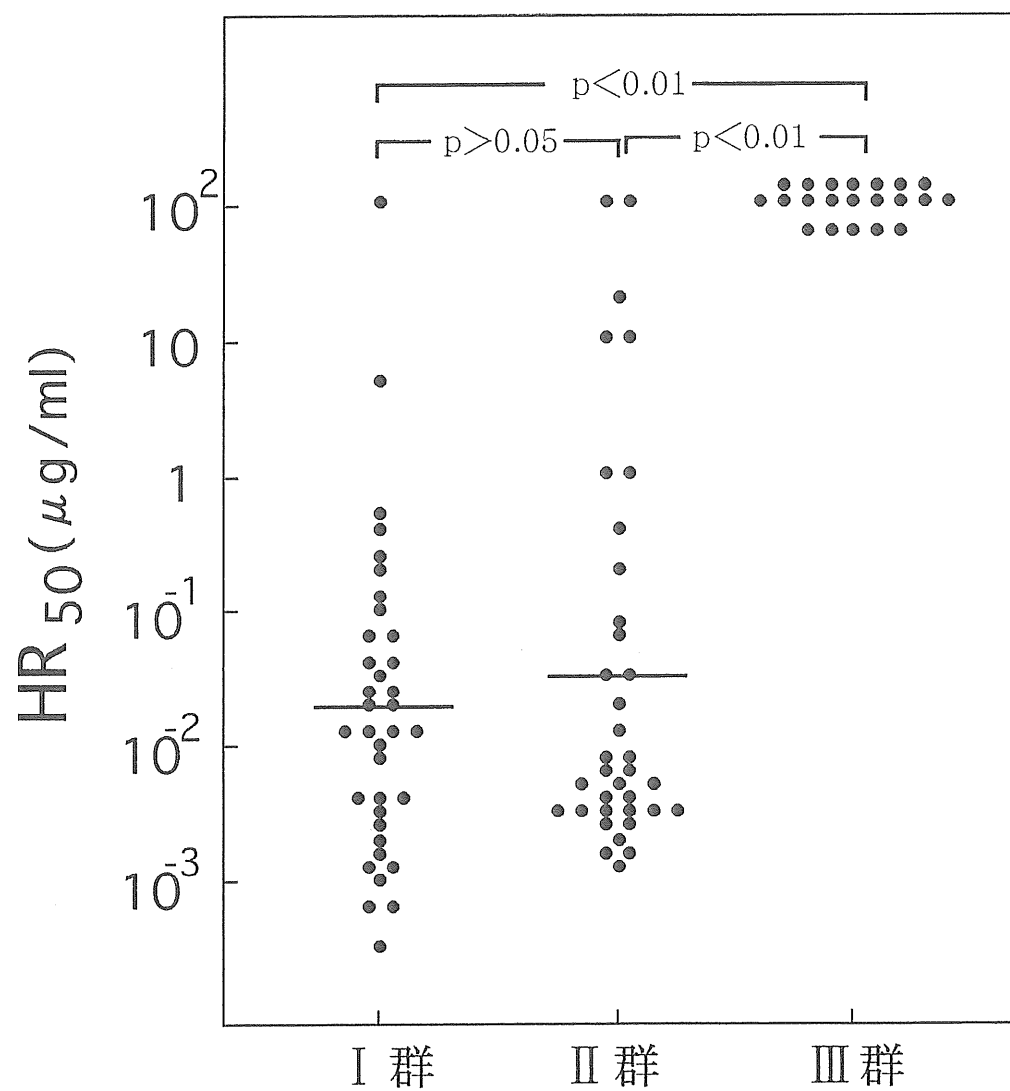


図4-1. 3 群の好塩基球からのヒスタミン遊離能

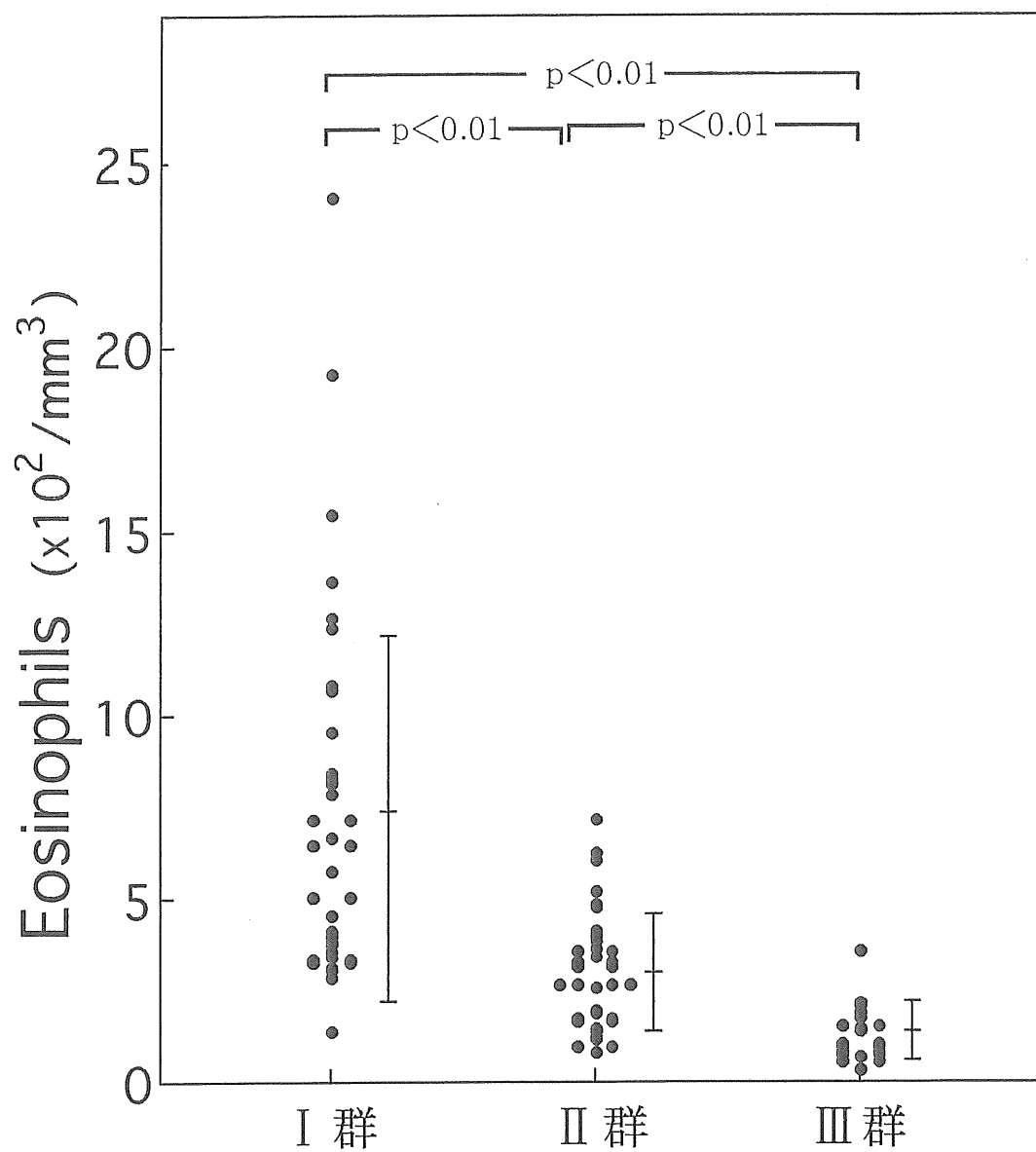


図4-2. 3 群の末梢血好酸球数の比較

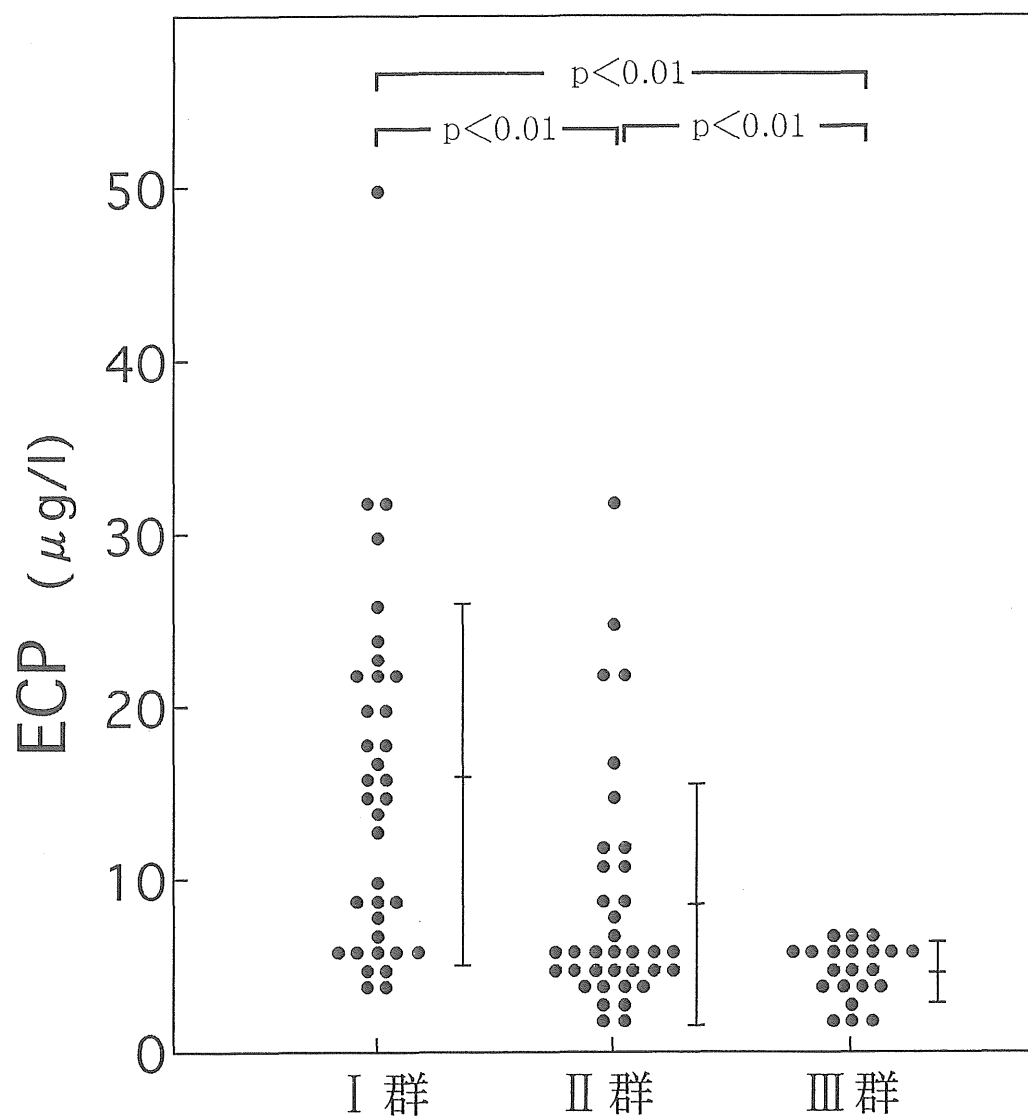


図4-3. 3 群の血清 E C P 値

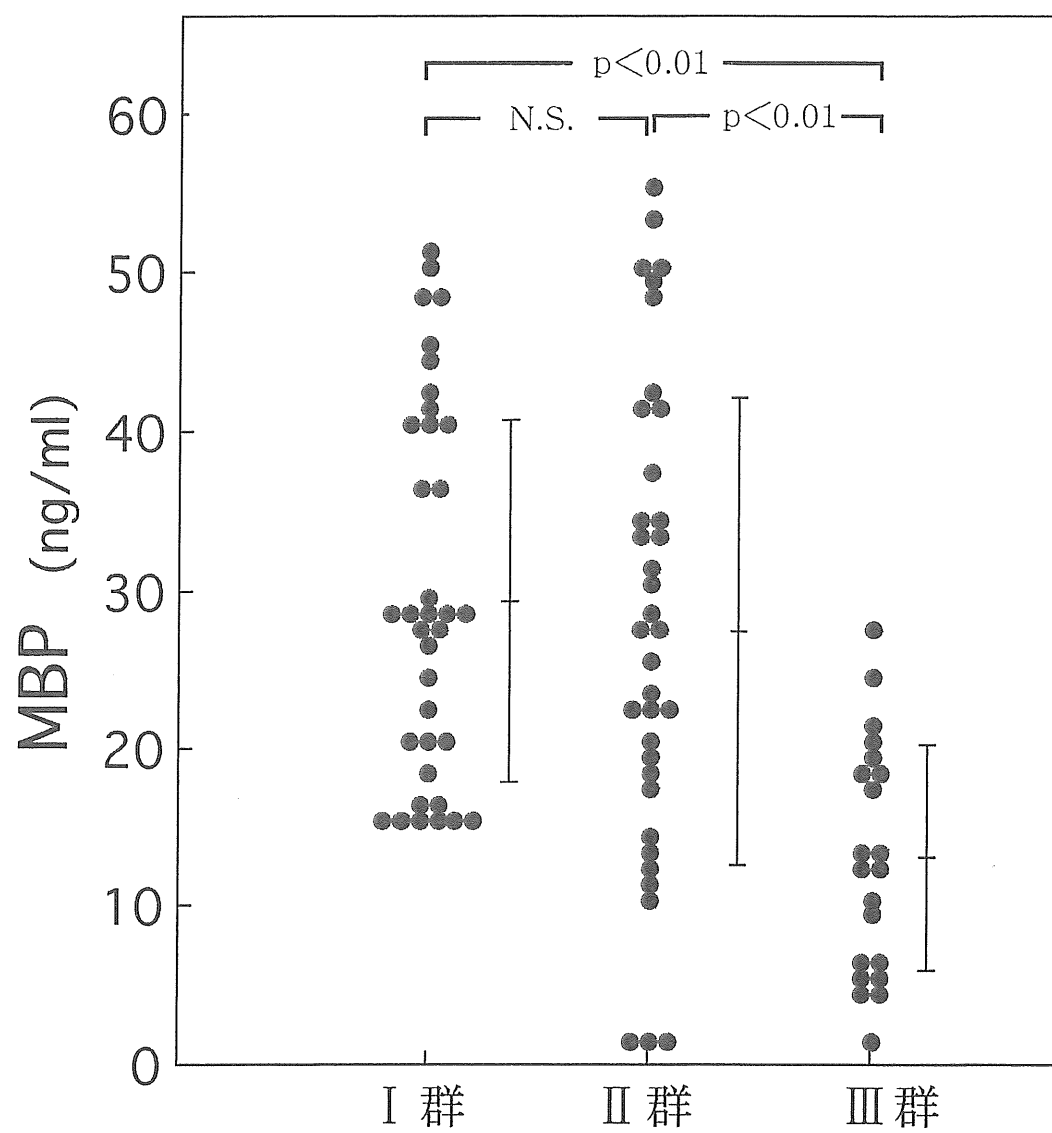
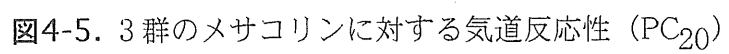


図4-4. 3 群の血清MBP値





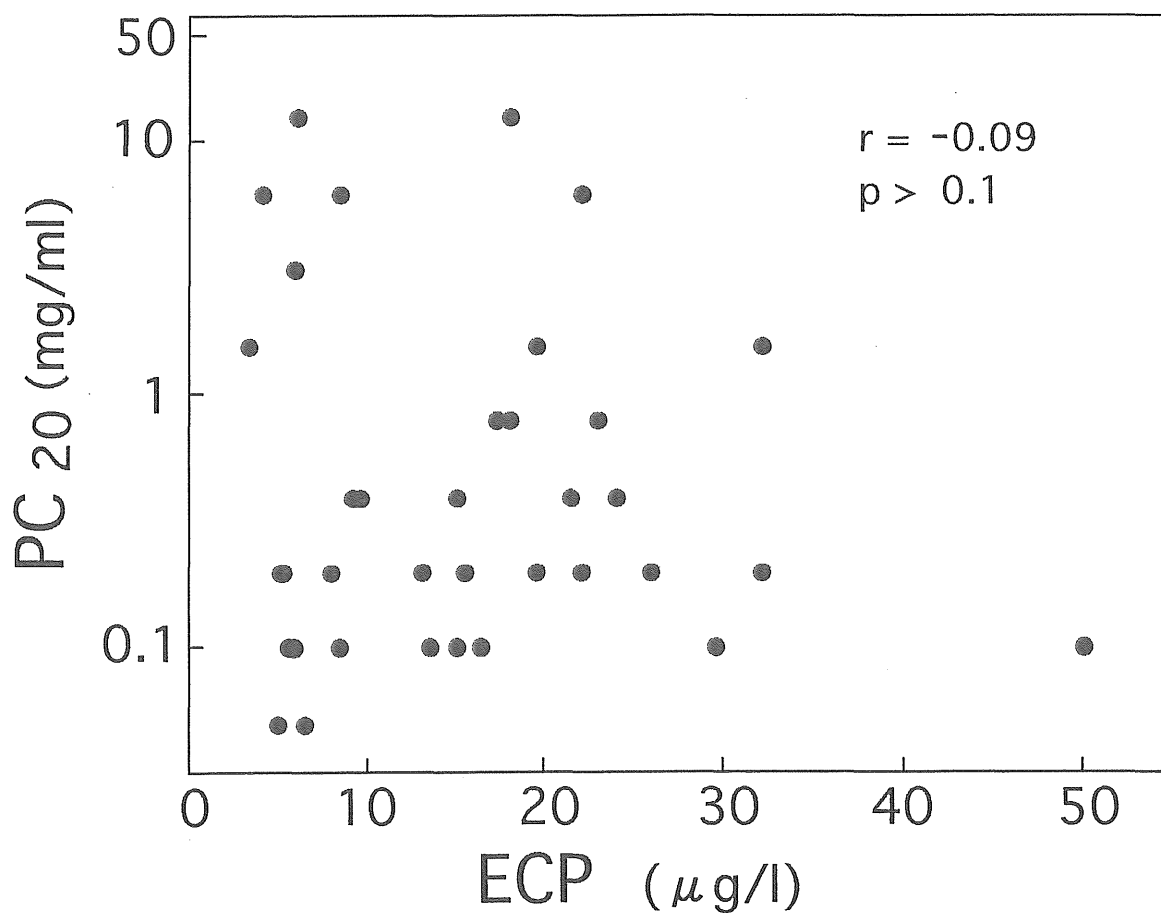
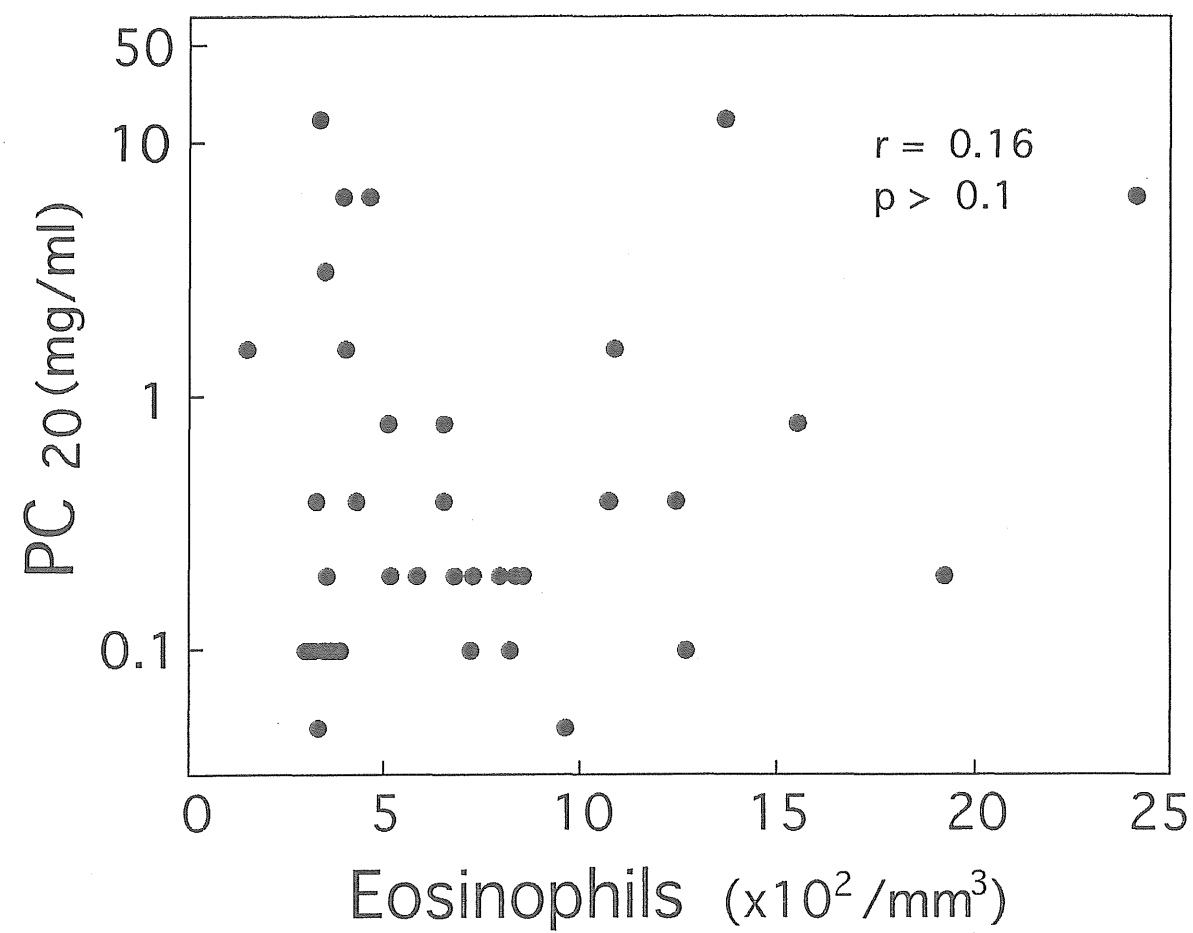


図4-6. I群におけるメサコリンに対する気道反応性と末梢血好酸球数（上）および血清ECP値（下）との関係。

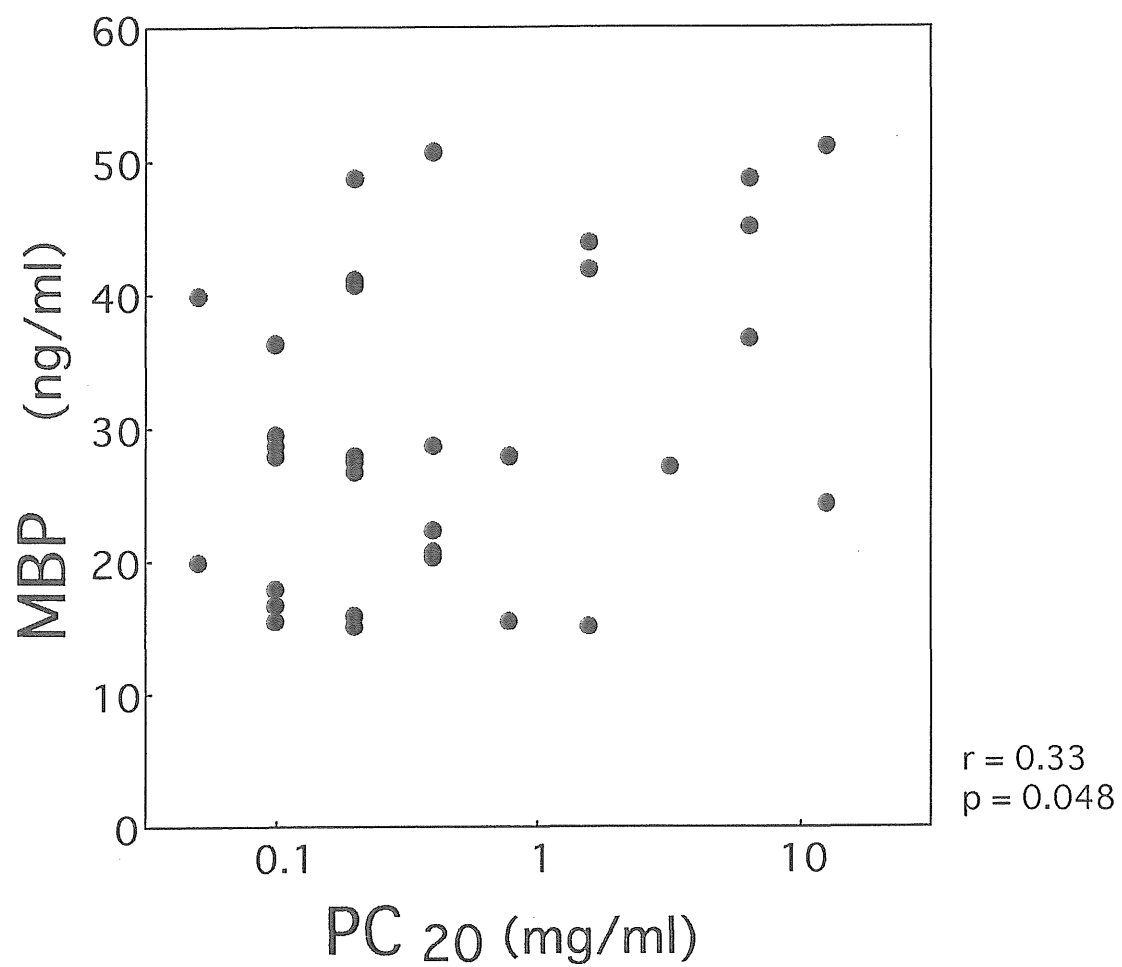


図4-7. I 群における血清MBP 値とPC<sub>20</sub>の関係。  
両者の間には有意の関係は認められなかった  
( $p > 0.03$ )。

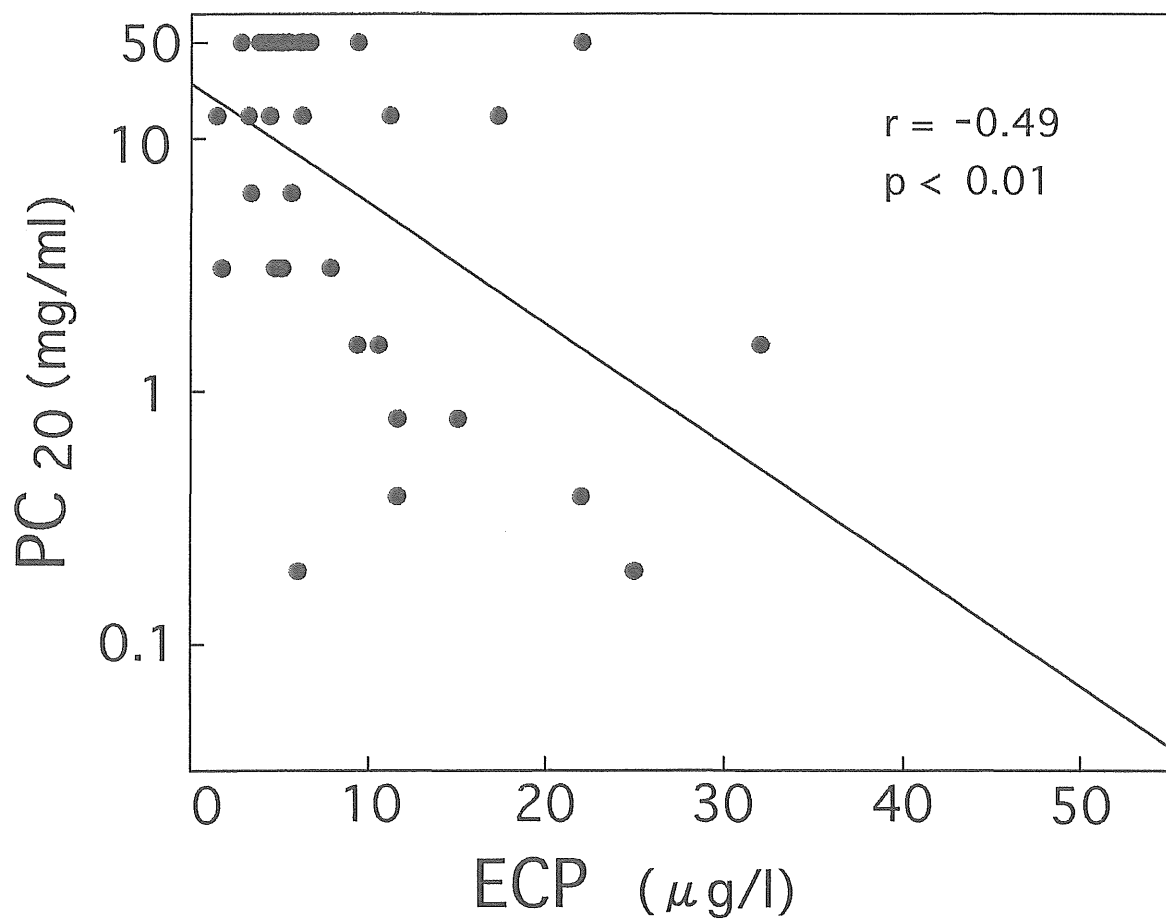
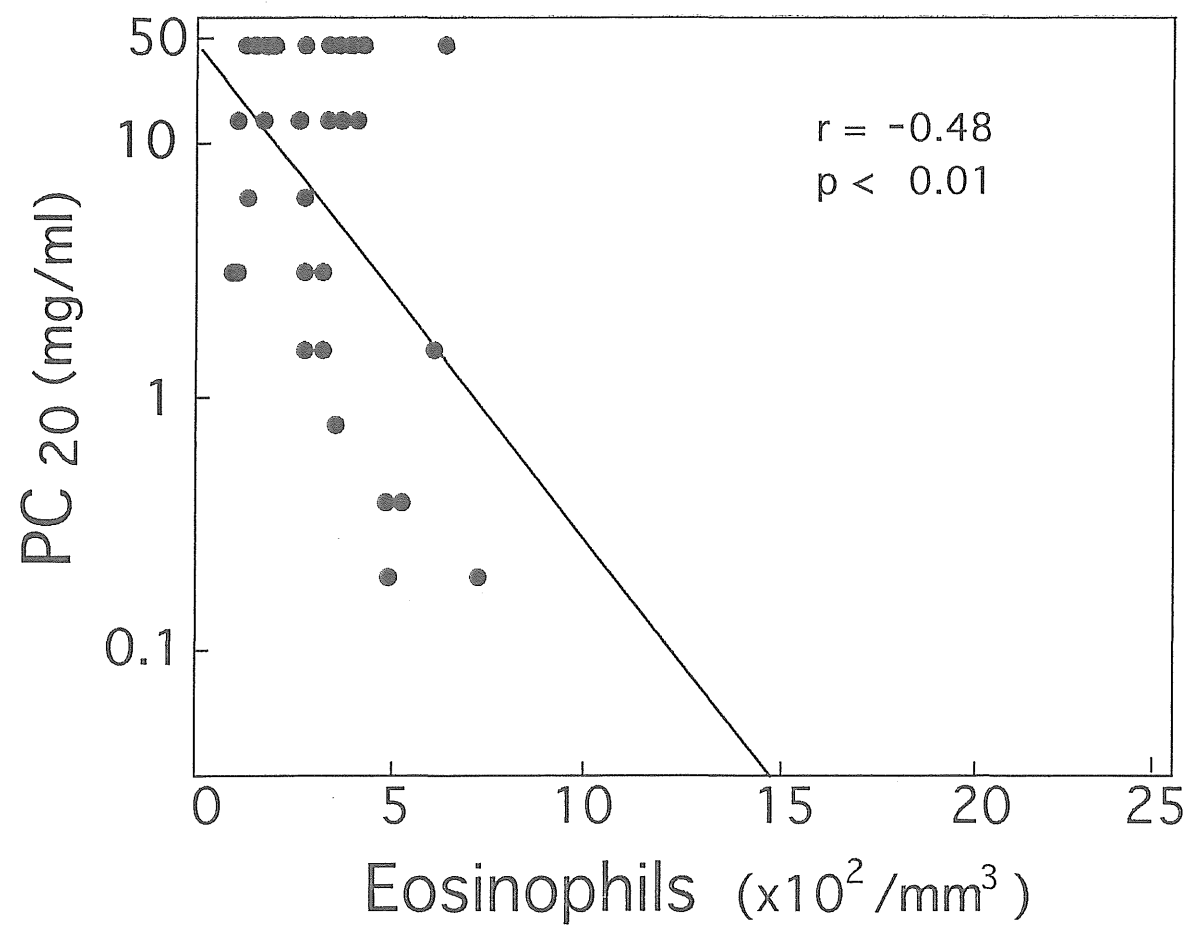


図4-8. II群におけるメサコリンに対する気道反応性と末梢血好酸球（上）および血清ECP値（下）。

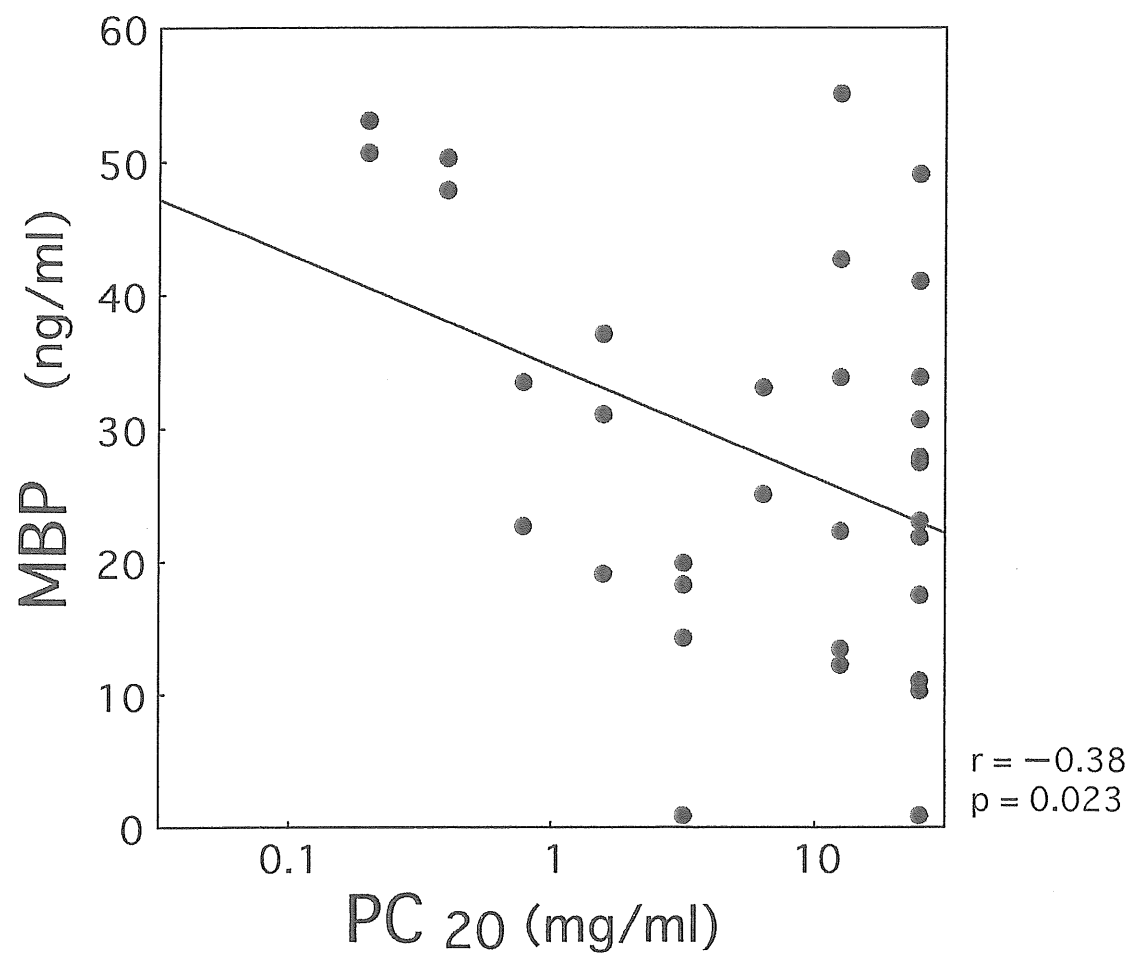


図4-9. II群における血清MBP値とPC<sub>20</sub>の関係。  
両者の間には有意の相関が認められた  
( $p < 0.03$ )。

## V 章 結 論

本研究によって以下のことが明らかになった。

1. 学童一般集団における気管支喘息の有病率は3.6%であった。
2. 喘息の有病率とダニ特異IgE抗体値との間には有意の相関が認められ、喘息発症はダニ抗原に対する特異免疫応答性に依存していることが示唆された。
3. 健常児16名に比較して、喘息児47名のダニ特異IgE抗体値および血清IgE値は有意に高値、メサコリン吸入閾値 ( $PC_{20}$ ) は有意に低値であった。
4. 喘息児におけるダニ特異IgE抗体値、血清IgE値のいずれも気道反応性 ( $PC_{20}$ ) とは有意の相関を示さなかった。
5. ダニ特異IgE抗体値の高い喘息児36名 (Ⅰ群)、ダニ特異IgE抗体値の高い非喘息児36名 (Ⅱ群)、ダニRAST値陰性の健常児21名 (Ⅲ群) において、ダニ抗原刺激による好塩基球のヒスタミン遊離能、末梢好酸球数、血清ECP値、血清MBP値およびメサコリンに対する気道反応性を比較検討した。好塩基球からの50%のヒスタミン遊離 ( $HR_{50}$ ) を引き起こすダニ抗原量には、Ⅰ群とⅡ群の間で有意な差は無かった ( $p>0.05$ ) 。
6. 末梢血好酸球数および血清ECP値はともにⅠ群で最も高く、Ⅲ群で最も低かった。Ⅱ群ではその中間に位置していた。また、3群間には有意差が認められた ( $p<0.01$ ) 。
7. 血清MBP値は、Ⅰ群、Ⅱ群ともにⅢ群に比較して有意に高値であったが、Ⅰ群とⅡ群の間には有意差は認められなかった。
8.  $PC_{20}$ の平均値はⅠ群で最も低く、Ⅱ群でその中間、Ⅲ群で最も高かった。3群間で有意差が認められた ( $p<0.01$ ) 。
9. Ⅱ群においては $PC_{20}$ と末梢血好酸球数 ( $r=-0.48, p<0.01$ )、 $PC_{20}$ と血清ECP値 ( $r=-0.49, p<0.01$ ) および $PC_{20}$ と血清MBP値 ( $r=-0.38, p=0.023$ ) との間に有意な相関が認められたが、Ⅰ群ではいずれの間にも明らかな相関は見られなかった。
10. 好酸球性炎症はダニアレルギーと密接に関与し、さらにその炎症の程度が気管支喘息の発症に深く関与していると推測された。

## 謝 辞

稿を終えるにあたり、ご指導ご校閲を賜りました筑波大学臨床医学系小児科 滝田 齊教授に心から御礼申し上げます。また本研究全般にわたり貴重なご指導ご助言をいただきました筑波大学臨床医学系小児科 柴崎正修講師に厚く御礼申し上げます。

MPB測定キットをご提供下さいました、エーザイ株式会社研究開発本部 橘 眞郎博士、吉松賢太郎博士ならびに筑波大学臨床医学系血液内科 阿部 帥教授に深謝いたします。

検体採取、ダニ特異IgE抗体、血清IgE抗体の測定にご協力いただきました筑波大学小児科の下記の方々に謝意を表します（敬称略）。

島倉八恵、伊本夏樹、磯山茂美

## 第VI章 引用文献

- 1.Meltzer SJ:Bronchial asthma as a phenomenon of anaphylalaxis.  
J.Am.M.Ass.1910;1v:1021-1024.
- 2.McFadden ER,Stevens JB.Ahistory of asthma.In : Middleton E Jr,  
Reed CE,Ellis EF,eds.Allergy:Principles and practice,ed.3.St.Louis:  
CV Mosby,1983;pp.805.
- 3.The Greco-Roman Tradition.In :Simons FER,eds.Ancestors of allergy.  
Marion Merrell Dow Inc.,1944; p44-49.
- 4.Seasonal allergic rhinitis and pollen.In :Simons FER,eds.Ancestors of  
allergy.Marion Merrell Dow Inc.,1944; p78-87.
- 5.Laënnec RTH.A treatise on the diseases of the chest.4th ed.  
(trans.by Fobes J.) .London:Longman,Rees,Orme,Brown,Green,1834.
- 6.Behring u. Kitasato S:Über das Zustandekommen der  
Diphtherie-Immunität unt der Tetanus-Immunität bei Thieren.  
Deutsche med.Wochenschr.1890;16:1113-1114.
- 7.Portier P,Richet Ch:De l'action anaphylactique de certains venins.  
Compt.rend.Soc.de biol.1902;54:170-172.
- 8.Arthus M:Injections repetees de serum de cheval chez le lapin.  
Compt.rend.Soc.de biol.1903;55:817-820.
- 9.v.Pirquet C:Allergie.Munchen.med.Wochenschr.1906;53:  
1457-1458.
- 10.Cooke RA,Vander Veer A:Human sensitization.J Immunol 1916;i:  
201-305.
- 11.Prausnitz C,Küstner H:Studien über die Überempfindlichkeit.  
Centralbl.Bakteriol.Orig.1921;86:160-169.
- 12.Coca AF,Cook RA:On the classification of the phenomena of  
hypersensitiveness.J Immunol.1923;viii:163-182.
- 13.Ishizaka K,Ishizaka T,Hornbrook MM:Physico-chemical properties



- of human reaginic antibody. IV. Presence of a unique immunoglobulin as the carrier of reaginic activity. *J Immunol* 1966;97:75-85.
14. Johansson SGO, Bennich H: Immunological studies of an atypical (myeloma) immunoglobulin. *Immunology* 1967;13:381-394.
  15. Wide L, Bennich H, Johansson SGO: Diagnosis of allergy by an *in vitro* test for allergen antibodies. *Lancet* 1967;ii:1105-1107.
  16. Kern RA: Dust sensitization in bronchial asthma. *Med Clin N Am* 1921;v:751-758.
  17. Cooke RA: Studies in specific hypersensitiveness. IV. New etiologic factors in bronchial asthma. *J Immunol* 1922;vii:147-162.
  18. Voorhorst R, Spijksma-Boezeman MI, Spijksma FT: Is a mite (*Dermatophagoides* Sp.) the producer of the house dust allergen? *Allergic Asthma* 1964;10:329-334.
  19. Miyamoto T, Oshima S, Ishizaka T, Sato S: Allergic identity between the common floor mite (*Dermatophagoides farinae* Hughes, 1961) and house dust as a causative antigen in bronchial asthma. *J Allergy* 1968;42:14-28.
  20. Oshima S: Studies on the mite fauna of the house-dust of Japan and Taiwan with special reference to house-dust allergy. *Jpn J Sanit Zool* 1970;21:1-17.
  21. Shibasaki M, Tajima K, Morikawa A, Mitsuhashi M, Sumazaki R, Tokuyama K: Relation between frequency of asthma and IgE antibody levels against *Dermatophagoides farinae* and total serum IgE levels in schoolchildren. *J Allergy Clin Immunol* 1988;82:86-94.
  22. Chapman MD, Platts-Mills TA: Purification and characterization of the major allergen from *Dermatophagoides pteronyssinus*-antigen P I. *J Immunol* 1980;125:587-592.
  23. Chua KY, Stewart GA, Thomas WR, Simpson RJ, Dilworth RJ, Plozza TM, Turner KJ: Sequence analysis of cDNA coding for a major house dust

- mite allergen, *Der P I*. Homology with cysteine proteases. J Exp Med 1988;167:175-182.
24. Chua KY, Doyle CR, Simpson RJ, Turner KJ, Stewart GA, Thomas WR: Isolation of cDNA coding for the major mite allergen *Der p II* by IgE plaque immunoassay. Int Arch Allergy Appl Immunol 1990;91: 118-123.
  25. Dilworth RJ, Chua KY, Thomas WR: Sequence analysis of cDNA coding for a major house dust mite allergen, *Der f I*. Clin Exp Allergy 1991; 21:25-32.
  26. Yuuki T, Okumura Y, Ando T, Yamakawa H, Suko M, Haida M, Okudaira H: Cloning and sequence of cDNA corresponding to mite major allergen *Der f II*. Jpn J Allergol 1990;39:557-561.
  27. Shibasaki M, Hori T, Shimizu T, Isoyama S, Takeda K, Takita H: Relationship between asthma and seasonal allergic rhinitis in schoolchildren. Ann Allergy 1990;65:489-495.
  28. Ahlquist RP: A study of the adrenotropic receptors. Am J Physiol 1948; 153:586.
  29. Lands AM, Arnold A, McAuliff JP, Luduena FP, Brown TG Jr: Differentiation of receptor systems activated by sympathomimetic amines. Nature 1967;214:597.
  30. Szentivanyi A: The beta-adrenergic theory of the atopic abnormality in bronchial asthma. J Allergy 1968;42:203.
  31. Zaid G, Beall GN: Bronchial response to beta-adrenergic blockade. N Engl J Med 1966;275:580.
  32. Zaid G, Beall GN, Heimlich EM: Bronchial response to exercise following beta-adrenergic blockade. J Allergy 1968;42:177.
  33. Hargreave FE, Ramsdale EH. Airway hyperresponsiveness to methacholine or histamine in asthma: mechanisms. In: Middleton E Jr, Reed CE, Ellis EF, eds. Allergy: Principles and practice, ed. 3. St. Louis:

CV Mosby,1988;pp.999-1007.

34. Patel KR, Kerr JW, MacDonald EB, MacKenzie AM: The effect of thymoxamine and cromolyn sodium on postexercise bronchoconstriction in asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1976;57:285.
35. Barnes PJ, Wilson NM, Vickers H: Prazosin, an alpha 1-adrenoceptor antagonist, partially inhibits exercise-induced asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1981;68:411.
36. Kerr JW, Govindaraj M, Patel KR: Effect of alpha-receptor blocking drugs and disodium chromoglycate on histamine hypersensitivity in bronchial asthma. *Brv Med J* 1970;2:139.
37. Szentivanyi A, Heim O, Schute P: Changes in adrenoceptor densities in membranes of lung tissue lymphocyte from disease. *Ann.N.Y.Acad.Sci* 1979;332:295.
38. Wells RE Jr, Walker JEC, Hickler RB: Effects of cold air on respiratory airflow resistance in patients with respiratory tract disease. *N Eng J Med* 1960;263:268.
39. Boushey HA, Holtzman MJ, Sheller JR, Nadel JA: Bronchial hyperreactivity. *Am Rev Respir Dis* 1980;121:389.
40. Empey DW, Laitinen LA, Jacobs L, Gold WM, Nadel JA: Mechanisms of bronchial hyperreactivity in normal subjects after upper respiratory tract infection. *Am Rev Respir Dis* 1976;113:131-139.
41. Holtzman MJ, Cunningham JH, Sheller JR, Irsigler GB, Nadel JA, Boushey HA: Effect of ozone on bronchial reactivity in atopic and nonatopic subjects. *Am Rev Respir Dis* 1979;120:1059.
42. Nadel JA, Salem H, Tamplin B, Tokiwa Y: Mechanisms of bronchoconstriction during inhalation of sulfur dioxide. *J Appl Physiol* 1965;20:164.
43. Kaliner M: The cholinergic nervous system and immediate hypersensitivity. I. Eccrine sweat responses in allergic patients.

- J Allergy Clin Immunol 1976;58:308.
44. Fraser CM, Venter JC, Kaliner M: Autonomic abnormalities and autoantibodies to beta-adrenergic receptors. *N Engl J Med* 1981;305: 1165.
  45. Forman J. Asthma-phthisis. In: Domestic medicine, as adapted for the diseases of the United States by Norwood JG, (ed. by Buchan W), U.P. James, Cincinnati, 1983. Reprinted in *Ohio State Med J* 1949;45: 814.
  46. Eberle JH. Treatise on the practice of medicine. vol. 2, p. 183, John Grigg, Philadelphia, 1830.
  47. Gerhard WW. The diagnosis, pathology and treatment of the diseases of the chest. 3rd ed., p 152, Edmund Barrington & George D, Haswell, Philadelphia, 1850.
  48. 楠 五郎雄: 気管支喘息と気管支反応. 醫界週報 1943;402:2146-2147.
  49. Alexander HL, Paddock R. Bronchial asthma; response to pilocarpin and epinephrin. *Arch Int Med*, Chicago, 1921, xxvii, 184-191.
  50. Curry JJ: Comparative action of acetyl-beta-methylcholine and histamine on the respiratory tract in normals, patients with hay fever and subjects with bronchial asthma. *J Clin Invest* 1947;26:430-438.
  51. Tiffeneau R, Beauvallet M: Broncho-constriction par aerosols acetylcholiniques. Test pour la mesure de l'insuffisance respiratoire, *Bull. et mem. Soc. med. d. hop. de Paris* 1945;61:107-108.
  52. Chai H, Farr RS, Froehlich LA, Mathison DA, McLean JA, Rosenthal RR, Sheffer AL, Spector SL, Townley RG: Standardization of bronchial inhalation challenge procedures. *J Allergy Clin Immunol* 1975;56: 323-327.
  53. Woolcock AJ, Salome CM, Yan K: The shape of dose-response curve to histamine in asthmatic and normal subjects. *Am Rev Respir Dis* 1984;130:71-75.

- 54.Cockcroft DW,Killian DN,Mellon JJA,Hargreave FE:  
Bronchial reactivity to inhaled histamine:a method and clinical  
survey.Clin Allergy 1977;7:235-243.
- 55.牧野莊平,小林節雄,宮本昭正,信太隆夫,高橋昭三,可部順三郎,中島重徳 :  
気管支喘息および過敏性肺臓炎における吸入試験の標準法.アレルギー 1981;  
31 : 1074-1076.
- 56.Adkinson J:The behavior of bronchial asthma as an inherited  
character.Genetics 1920;5:363.
- 57.Wiener AS,Zieve I,Fries JH:The inheritance of allergic disease.  
Ann Eugen 1936;7:141.
- 58.Marsh DG,Bias WB,Ishizaka K:Genetic control of basal serum  
immunoglobulin E level and its effect on specific reaginic sensitivity.  
Proc Nat Acad Sci USA 1974;71:3588-3592.
- 59.McDevitt HO,Sela M:Genetic control of the antibody response. I .  
Demonstration of determinant-specific differences in response to  
synthetic polypeptide antigens in two strains of inbred mice.  
J Exp Med 1972;177:517.
- 60.Benacerraf B,McDevitt HO:Histocompatibility-linked immune  
response genes.Science 1972;175:273-279.
- 61.Vaz NM,Levine BB:Immune responses of inbred mice to repeated low  
doses of antigen-relationship of histocompatibility (H-2) types.  
Science 1970;168:852.
- 62.Levine BB,Stember RH:Ragweed hayfever:Genetic control and linkage  
to HL-A haplotypes.Science 1972;178:1201.
- 63.Marsh DG,Bias WB,Hsu SH,Goodfriend L:Association of the HL-A7  
crossreacting group with specific reaginic antibody response in  
allergic man.Science 1973;179:691.
- 64.Blumenthal MN,Amos DB,Noreen H:Genetic mapping of Ir locus in man;  
Linkage to second locus of HL-A.Science 1974;184:1301.

65. Cookson WO, Hopkin JM: Dominant inheritance of atopic Immunoglobulin-E responsiveness. *Lancet* 1988;i:86.
66. Cookson WO, Sharp PA, Faux JA, Hopkin JM: Linkage between immunoglobulin E responses underlying asthma and rhinitis and chromosome 11q. *Lancet* 1989;i:1292-1295.
67. Marsh DG, Neely JD, Breazeale DR, Ghosh B, Freidhoff LR, Ehrlich-Kautzky E, Schou C, Krishnaswamy G, Beaty TH: Linkage analysis of IL4 and other chromosome 5q31.1 markers and total serum immunoglobulin E concentrations. *Science* 1994;264:1152-1156.
68. Kobilka BK, Frielle T, Dorlman HG, Bolanowski MA, Dixon RA, Keller P, Caron MG, Lefkowitz RJ: Delineation of the intronless nature of the genes for the human and hamster  $\beta_2$ -adrenergic receptor and their putative promoter regions. *J Biol Chem* 262; 1978:7321-7327.
69. Lentes KU, Berrettini WH, Hoehe MR, Chung FZ, Gershon ES: A biallelic DNA polymorphism of the human beta-2 adrenergic receptor detected by Ban I-Adrbr-2. *Nucleic Acid Res* 16; 1988: 2359.
70. Ohe M, Munakata M, Hizawa N, Itoh A, Doi I, Yamaguchi E, Homma Y, Kawakami Y: Beta-2-adrenergic receptor gene restriction fragment length polymorphism and bronchial asthma. *Thorax* 1995;50:353-359.
71. Gollasch: Zur kenntniss der asthmatischen sputums. *Fortschritte der Medizin*(Berlin) 1889;7:361-365.
72. Ehrlich P: Beitrage zur Kenntniss der granulierten Bindegewebszellen und der eosinophilen Leukocyten. *Arch Anat Physiol Lpz 3 Physiol Abt* 1879;166-169(p.5).
73. Goetzi EJ, Wasserman DSI, Austen KF: Eosinophil polymorphonuclear leukocyte function in immediate hypersensitivity. *Arch Pathol Lab Med* 1975;99:1-4.
74. Gleich GJ, Loegering DA, Maldonado JE: Identification of a major basic protein in guinea pig eosinophil granules. *J Exp Med* 1973;137:

1459-1471.

75. Frigas E, Loegering DA, Solley GO, Farrow GM, Gleich GJ: Elevated levels of the eosinophil granule major basic protein in the sputum of patients with bronchial asthma. *Mayo Clin Proc* 1981;56:345-353.
76. Olsson I, Venge P: Cationic proteins of human granulocytes. II. Separation of the cationic proteins of the granules of leukemic myeloid cells. *Blood* 1974;44:235-246.
77. Olsson I, Venge P, Spitznagel KJ, Lehrer RI: Arginine-rich cationic proteins from human eosinophil granules. *Lab Invest* 1977;36:493-500.
78. McLaren DJ, McKean JR, Olsson I, Venges P, Kay AB: Morphological studies on the killing of schistosomula of *Schistosoma mansoni* by human eosinophil and neutrophil cationic proteins in vitro. *Parasite Immunol* 1981;3:359-373.
79. Motojima S, Frigas E, Loegering DA, Gerald GJ: Toxicity of eosinophil cationic proteins for guinea pig tracheal epithelium in vitro. *Am Rev Respir Dis* 1989;139:801-805.
80. Horn BR, Robin ED, Theodore J van Kessel A: Total eosinophil counts in the management of bronchial asthma. *N Engl J Med* 1975;292:1152-1155.
81. Reinolds HY, Newball HH: Analysis of proteins and respiratory cells obtained from human lungs by bronchial lavage. *J Lab Clin Med* 84;1974:559.
82. 竹山博泰, 他: 気道細胞反応から見た気管支喘息の病態に管する研究-気管支肺胞洗浄法による検討. *アレルギー* 29;1980:875.
83. Tai PC, Spry CJ, Peterson C, Venge P, Olsson I: Monoclonal antibodies distinguish between storage and secreted forms of eosinophil cationic protein. *Nature* 1984;309:182-184.
84. Bradley BL, Azzawi M, Jacobson M, Assoufi B, Collins JV, Irani AA,

- Schwartz LB,Durham SR,Jeffery PK,Kay AB:Eosinophils,T-lymphocytes, mast cells,neutrophils,and macrophages in bronchial biopsy specimens from atopic subjects with asthma:comparison with biopsy specimens from atopic subjects without asthma and normal control subjects and relationship to bronchial hyperresponsiveness. J Allergy Clin Immunol 1991;88:661-674.
- 85.Djukanovic R,Lai CKW,Wilson JW,Britten KM,Wilson SJ,Roche WR, Howarth PH,Holgate ST:Bronchial mucosal manifestations of atopy: a comparison of markers of inflammation between atopic asthmatics, atopic nonasthmatics and healthy controls.Eur Respir J 1992;5: 538-544.
- 86.Calderon E,Lockey RF:A possible role for adhesion molecules in asthma.J Allergy Clin Immunol 1992;90:852-865.
- 87.Weller PF,Rand TH,Barrett T,Elovic A,Wong DT,Finberg RW:Accessory cell function of human eosinophils:HLA-DR-dependent,MHC-restricted antigen-presentation and IL-1  $\alpha$  expression.J Immunol 1993;150: 2554-2562.
- 88.A report of the conclusions of a ciba guest symposium:Terminology, definitions,and classifications of chronic pulmonary emphysema and related conditions.Thorax 1959;14:286-299.
- 89.American Thoracic Society,Commitee on diagnostic standard for non-tuberculous respiratory diseases,chronic bronchitis,asthma,and pulmonary emphysema.Am Rev Respir Dis 1962;85:762-768.
- 90.Ferris BG:Epidemiology standardization project.2.Recommended respiratory disease questionnaires for use with adults and children in epidemiological research.Am Rev Respir Dis 118;1978:7-53.
- 91.宮本昭正:気管支喘息の定義について.文部省研究班A報告.昭和63(1988)年 1月9日
- 92.National Heart,Lung and Blood Institute,national institute of Health,



Definition,International Consensus Report on Diagnosis and Treatment of Asthma,U.S.Department of Health and Human Services. 1992,P1

93.National Heart,Lung,and blood institute,National Institute of Health. Global initiative for asthma:Global strategy for asthma management and prevention NHLBI/WHO workshop report March 1993,NIH,USA, 1995 January.

94.中島重徳、可部順三郎、宮本昭正、牧野荘平ほか：成人喘息の診断と治療。

第5回日本アレルギー学会春季臨床大会特別シンポジウム：アレルギー疾患治療ガイドライン（牧野荘平監修）。東京：ライフサイエンスメディカ,1993;p1-37.

95.三河春樹、馬場 実：小児気管支喘息の診断と治療.第5回日本アレルギー学会春季臨床大会特別シンポジウム：アレルギー疾患治療ガイドライン（牧野荘平監修）。東京：ライフサイエンスメディカ,1993;p40-60.

96.Rackemann FM:Studies in asthma-analysis of 213 cases.in which patients were relieved for more than 2 years.Arch Intern Med 1928; 41:346.

97.Swineford O Jr:Asthma:Classification of causes.A recommended classification and a critical review.J Allergy 1954;25:151.

98.Rose B,Hogg JC,Macklem P.The pathogenesis of bronchial asthma.In: Immunological diseases (Samter M ed) ,Little,Brown and Company, Boston/Toront,1978,p852.

99.Laitinen LA,Heino M,Laitinen A,Kava T,Haahtela T:Damage of the airway epithelium and bronchial reactivity in patients with asthma. Am Rev Respir Dis 1985;131:599-606.

100.Laitinen LA,Laitinen A.Pathology of human asthma.In:Kalinin MA, Barnes PJ,Persson CGA,eds.Asthma.New York:Marcel Dekker,1991; p103-134.

101.Beasley R,Roche WR,Roberts JA,Holgate ST:Cellular events in the bronchi in mild asthma and after bronchial provocation.

- Am Rev Respir Dis 1989;139:806-817.
102. Jeffery PK, Wardlaw AJ, Nelson FC, Collins JV, Kay AB: Bronchial biopsies in asthma: an ultrastructural, quantitative study and correlative with hyperreactivity. Am Rev Respir Dis 1989;140:1745-1753.
  103. Frigas E, Gleich GJ: The eosinophil and the pathophysiology of asthma. J Allergy Clin Immunol 1986;77:527-537.
  104. Gleich GJ: Eosinophils, basophils and mast cells. J Allergy Clin Immunol 1989;84:1024-1027.
  105. Fukuda T, Ando N, Numao T, Akutsu I, Nakajima H, Makino S: Lymphocyte subsets in bronchial mucosa of symptomatic and asymptomatic asthmatics. J Allergy Clin Immunol 1991;87:302.
  106. Robinson DS, Hamid Q, Bentley AM, Yin S, Kay AB, Durham SR: Activation of CD4<sup>+</sup> cell, increased Th<sub>2</sub>-type cytokine mRNA expression, and eosinophil recruitment in bronchoalveolar lavage after allergen inhalation challenge in patients with atopic asthma. J Allergy Clin Immunol 1993;92:313-324.
  107. Fukuda T, Nakajima H, Fukushima Y, Akutsu I, Numao T, Maijima K, Motojima S, Sato Y, Takatsu K, Makino S: Detection of interleukin-5 messenger RNA and interleukin-5 protein in bronchial biopsies from asthma by nonradioactive in situ hybridization and immunohistochemistry. J Allergy Clin Immunol 1994;94:584-593.
  108. Brostoff J, Hall T, (奥平博一 訳) . I 型アレルギー. In: Roitt IM, Brostoff J, Male DK, 編 (多田富雄 監訳) . Immunology (邦題: 免疫学イラストレイテッド) . 東京: 南光堂, 1990 ; p255-274.
  109. 牧野荘平. 免疫, アレルギー, アトピー: 井村裕夫, 尾形悦郎, 高久史磨, 垂井清一郎 編. 最新内科学大系第23巻, 免疫・アレルギー性疾患2, アトピー・アレルギー性疾患. 東京: 中山書店, 1992; p3-15.
  110. Holgate ST, Robinson C, Church MK: Mediators of immediate hypersensitivity. In: Middleton E Jr, Reed CE, Ellis EF, eds. Allergy:

- Principles and practice,ed.3.St.Louis:CV Mosby,1988;pp.135-163.
- 111.Coombs RRA,Gell PGH.The Classification of allergic reactions underlying disease.In:Gell PGH,Coombs RAA,eds.Clinical aspects of immunology.Oxford:Blackwell,1963;pp.317-337.
- 112.De Monchy JG,Kauffman HF,Venge P,Koeter GH,Lansen HM,Sluiter HJ, De Vries K:Bronchoalveolar eosinophilia during allergen-induced late asthmatic reactions.Am Rev Respir Dis 1985;131:373-376.
- 113.Wardlaw AJ,Dunnette S,Gleich GJ,Collins JV,Kay AB:Eosinophils and mast cells in bronchoalveolar lavage in subjects with mild asthma: relationship to bronchial hyperreactivity.Am Rev Respir Dis 1988; 137:62-69.
- 114.Winqvist I,Olofsson T,Olsson I:Mechanism for eosinophil degranulation; release of the eosinophil cationic protein.Immunology 1984;51:1
- 115.Shaw RJ,Cromwell O,Kay AB:Preferential generation of leukotriene C<sub>4</sub> by human eosinophils.Clin Exp Immunol 1984;56:716-722.
- 116.Turk J,Maas RL,Brash AR,Roberts LJ,Oates JA:Arachidonic acid 15-lipoxygenase products from human eosinophils.J Biol Chem 1982; 257:7068-7076.
- 117.Venge P.In:Hogg JC,Ellul-Micallef R,Brattsand R (eds.) , Glucocorticosteroids,inflammation and bronchial hyperreactivity, Excerpta Medica,Amsterdam,1984;p21-37.
- 118.Cockcroft DW,Ruffin RE,Dolovich J,Hargreave FE:Allergen-induced increase in non-allergic bronchial reactivity.Clin Allergy 1977;7: 503-513.
- 119.Platts-Mills TAE,Tovey ER,Michell EB,Mosezoro H,Nock P,Wilkins S: Reduction of bronchial hyper-reactivity during prolonged allergen avoidance.Lancet 1982;ii:675-677.
- 120.Durham SR,Kay AB:Eosinophils,bronchial hyperreactivity and late phase reaction.Clin Allergy 1985;15:411-418.

- 121.大橋裕二,本島新司,福田 健,牧野莊平:気管支喘息患者の気管支生検標本における好酸球浸潤と気道上皮細胞間隙開大像およびアセチルコリン閾値との関係.  
アレルギー 1990;39:1541-1545.
- 122.Barnes PJ,Baraniuk JN,Belvisi MG:Neuropeptides in the respiratory tract.Am Rev Respir Dis 1991;144:1187-1198,1391-1399.
- 123.Barnes PJ:Bradykinin and asthma.Thorax47;1992:979-983.
- 124.Cheung D,Timmers MC,Bel EH,Den Hartigh J,Dijkman JH,Sterk PJ:  
An inhaled neutral endopeptidase inhibitor,thiorphan,enhances airway narrowing to neurokinin A in asthmatic subjects *in vivo*.  
Am Rev Respir Dis [suppl]1992;145:A682.
- 125.Cheung D,Bel EH,Den Hartigh J,Dijkman JH,Sterk PJ:The effect of an inhaled neutral endopeptidase inhibitor,thiorphan,on airway responses to neurokinin A in normal humans *in vivo*.  
Am Rev Respir Dis 1992;145:1275-1280.
- 126.Cheung D,Timmers MC,Zwinderman AH,Den Hartigh J,Dijkman JH,  
Sterk PJ:Neutral endopeptidase activity and airway hyperresponsiveness to neurokinin A in asthmatic subjects *in vivo*.  
Am Rev Respir Dis 1993;148:1467-1473.
- 127.Hamid Q,Springall DR,Riveros-Moreno V,Chanez P,Howarth P,  
Redington A,Bousquet J,Godard P,Holgate S,Polak JM:Induction of nitric oxide synthase in asthma.Lancet 1993;342:1510-1513.
- 128.Mosmann TR,Coffman RL:Two types of mouse helper T-cell clone.  
Immunol Today 1987;8:22.
- 129.Romagnani S.Role of Th2 lymphocytes in the genesis of allergic disorders and mechanisms involved in their development,  
in Holgate ST,et al (eds) ,Asthma:Physiology,Immunopharmacology, and Treatment.London,Academic Press,1993,ch 13.
- 130.Del Prete G:Human Th<sub>1</sub> and Th<sub>2</sub> lymphocytes:their role in the pathophysiology of atopy.Allergy 1992;47:450-455.

131. Schweizer RC, Welmers BA, Raaijmakers JA, Zanen P, Lammers JW, Koenderman L. RANTES- and interleukin-8-induced responses in normal human eosinophils: effects of priming with interleukin-5. *Blood* 1994; 83:3697-3704.
132. Valerius T, Repp R, Kalden JR, Platzer E: Effects of IFN on human eosinophils in comparison with other cytokines. A novel class of eosinophil activators with delayed onset of action. *J Immunol* 1990; 145:2950-2958.
133. Paul WE and Ohara J: B-cell stimulatory factor-1/interleukin 4. *Ann Rev Immunol* 1987; 5:429-459.
134. Gauchat JF, Henchoz S, Mazzei G, Aubry JP, Brunner T, Blasey H, Life P, Talabot D, Flores-Romo L, Thompson J, et al: Induction of human IgE synthesis in B cells by mast cells and basophils. *Nature* 1993; 365: 340-343.
135. Holgate S: Mediator and cytokine mechanism in asthma. *Thorax* 1993; 48:103-109.
136. Montefort S, Holgate ST, Howarth PH: Leucocyte-endothelial adhesion molecules and their role in bronchial asthma and allergic rhinitis. *Eur Respir J* 1993; 6:1044-1054.
137. Ebisawa M, Yamada T, Bickel C, Klunk D, Schleimer RP: Eosinophil transendothelial migration induced by cytokines. III. Effect of the chemokine RANTES. *J Immunol* 1994; 153:2153-2160.
138. Gauldie, et al. Effector function of tissue structural cells in inflammation, In: Holgate ST, et al (eds) , *Asthma: Physiology, Immunopharmacology, and Treatment*. London, Academic Press, 1993, ch 17.
139. Reed CE, Townley RG. Asthma: classification and pathogenesis. In: Middleton E Jr, Reed CE, Ellis EF, eds. *Allergy: principles and practice*. St Louis: CV Mosby, 1978; 659-677.

140. Stenius B, Wode L: Reagenic antibody (IgE), skin, and provocation tests to *Dermatophagoides culinae* and house dust in respiratory allergy. *Lancet* 1969;2:455-458.
141. McNicol KN, Williams HE: Spectrum of asthma in children. II. Allergic components. *Br Med J* 1973;4:12-16.
142. Miyamoto T, Johansson SGO, Ito K, Horiuchi Y: Atopic allergy in Japanese subjects: studies primarily with radioallergosorbent test. *J Allergy Clin Immunol* 1974;53:9-19.
143. Aas K: Bronchial provocation tests in asthma. *Arch Dis Child* 1970;45:221.
144. Berg T, Johansson SGO: In vitro diagnosis of atopic allergy. I. A comparison between provocation tests and the radioallergosorbent test. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1971;40:770.
145. Sporik R, Heymann PW, Fernandes-Caldas E, Platts-Mills TAE. Indoor allergens and asthma. In: Tinkelman DG, Naspitz CK, eds. *Childhood asthma: Pathophysiology and treatment*. New York: Marcel Dekker, 1993; pp497-536.
146. Lindblad JH, Farr RS: The incidence of positive intradermal reactions and the demonstration of skin sensitizing antibody to extracts of ragweed and dust in humans without history of rhinitis or asthma. *J Allergy* 1961;32:392-401.
147. Barbee RA, Halonen M, Lebowitz M, Burrows B: Distribution of IgE in a community population sample: correlations with age, sex, and allergen skin test reactivity. *J Allergy Clin Immunol* 1981;68:106-111.
148. Ellis EF: Asthma in childhood. *J Allergy Clin Immunol* 1983;72:526.
149. Anonymous: Studies on the standardization of survey of respiratory disease using ATS-DLD-78 respiratory symptoms questionnaire. Environmental agency report 1982;1.
150. Shibasaki M, Sumazaki R, Takita H: Potentiation of IgE production to

- common environmental allergens by storage house dust mite *Dermatophagoides farinae*. Clin Allergy 1987;16:469-482.
151. Abacus Concepts, StatView. (Abacus Concepts, Inc., Berkeley, CA, 1992)
152. Morikawa A, Tajima K, Mitsuhashi M, Tokuyama K: Survey of respiratory disease. Environmental Agency Report 1982;1-29 (Japanese).
153. Tomioka M, Ida S, Shindoh Y, Ishihara T, Takishima T: Mast cells in bronchoalveolar lumen of patients with bronchial asthma. Am Rev Respir Dis 1984;129:1000-1005.
154. Flint KC, Hudspeth BN, Leung KBP, Pearce FL, Brostoff J, Johnson MCIN: Bronchoalveolar mast cells in extrinsic asthma. Clin Sci 1985;68:33.
155. Conroy MC, Adkinson NF Jr, Lichtenstein LM: Measurement of IgE on human basophils: relation to serum IgE and anti-IgE-induced histamine release. J Immunol 1977; 118: 1317.
156. Azzawi M, Bradley B, Jeffery PK, Frew AJ, Wardlaw AJ, Knowles G, Assoufi B, Collins JV, Durham S, Kay AB: Identification of activated T lymphocytes and eosinophils in bronchial biopsies in stable atopic asthma. Am Rev Respir Dis 1990;142:1407-13.
157. Kay AB, Ying S, Varney V, Gaga M, Durham SR, Moqbel R, Wardlaw AJ, Hamid Q: Messenger RNA expression of the cytokine gene cluster, interleukin3 (IL-3) , IL-4, IL-5, and granulocyte/macrophage colony-stimulating factor, in allergen-induced late-phase cutaneous reactions in atopic subjects. J Exp Med 1991;173:775-778.
158. Cartier A, Thomson NC, Frith PA, Roberts R, Tech M, Hargreave FE: Allergen-induced increase in bronchial responsiveness to histamine: relationship to the late asthmatic response and change in airway caliber. J Allergy Clin Immunol 1982;70:170-177.
159. Cockcroft DW, Ruffin RE, Frith PA, Cartier A, Juniper EF, Dolovich J, Hargreave FE: Determinants of allergen-induced asthma: dose of allergen, circulating IgE antibody concentration, and bronchial

- responsiveness to inhaled histamine. *Am Rev Respir Dis* 1979;120:1053-1058.
160. Peat JK, Britton WJ, Salome CM, IV AJ: Bronchial hyperresponsiveness in two populations of Australian schoolchildren. III. Effect of exposure to environmental allergens. *Clin Allergy* 1987;17:291-300.
  161. Bryant DH, Burns MW: The relationship between bronchial histamine reactivity and atopic status. *Clin Allergy* 1976;6:373-381.
  162. Neijens HJ, Degenhart HJ, Raatgeep HC, Kerrebijn KF: Study on the significance of bronchial hyperactivity in the bronchus obstruction after inhalation of cat dander allergen. *J Allergy Clin Immunol* 1979;64:507-515.
  163. Cartier A, Thomson NC, Frith PA, Roberts R, Tech M, Hargreave FE: Allergen-induced increase in bronchial responsiveness to histamine: relationship to the late asthmatic response and change in airway caliber. *J Allergy Clin Immunol* 1982;70:170-177.
  164. Boulet LP, Cartier A, Thomson NC, Roberts RS, Dolovich J, Hargreave FE: Asthma and increases in nonallergic bronchial responsiveness from seasonal pollen exposure. *J Allergy Clin Immunol* 1983;71:399-406.
  165. Sotomayor H, Badier M, Vervloet D, Orehek J: Seasonal increase of carbachol airway responsiveness in patients allergic to grass pollen. *Am Rev Respir Dis* 1984;130:56-58.
  166. Flint KC, Leung KB, Hudspith BN, Brostoff J, Pearce FL, Johnson NM: Bronchoalveolar mast cells in extrinsic asthma: a mechanism for the initiation of antigen specific bronchoconstriction. *Br Med J* 1985;291:923-926.
  167. Barnes PJ: New concepts in pathogenesis of bronchial hyperresponsiveness and asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1989;83:1013-1026.
  168. Venge P, Dahl R, Fredens K, Peterson Ch GB: Epithelial injury by human



- eosinophils. *Am Rev Respir Dis* (Suppl) 1988;138:54-57.
169. Wardlaw AJ, Dunnette S, Gleich GJ, Collins JV, Kay AB: Eosinophils and mast cells in bronchoalveolar lavage in subjects with mild asthma. *Am Rev Respir Dis* 1988;137:62-69.
170. Shibasaki M, Sumazaki R, Isoyama S, Takita H: Interaction of lectins with human IgE: IgE-binding property and histamine-releasing activity of twelve plant lectins. *Int Arch Allergy Immunol* 1992;98:18-25.
171. Anonymous: Pharmacia ECP RIA: Directions for use. Pharmacia. 1992.
172. Yamamoto H, Ninomiya H, Yoshimatsu K, Uchiyama Y, Shibasaki M, Enokihara H, Tachibana S, Abe T: Serum levels of major basic protein in patients with or without eosinophilia: measurement by enzyme-linked immunosorbent assay. *Br J Haematol* 1994;86:490-495.
173. Yoshimatsu K, Ohya Y, Shikata Y, Seto T, Hasegawa Y, Tanaka I, Kawamura T, Kitoh K, Toyoshima S, Osawa T: Purification and cDNA cloning of novel factor produced by a human T-cell hybridoma: sequence homology with animal lectins. *Mol Immunol* 1992;29(4): 537-546.
174. Shikata Y, Hayashi Y, Yoshimatsu K, Ohya Y, Seto T, Fukushima K, Yoshida Y: Pro-major basic protein has three types of sugar chains at the pro-portion. *Biochimica et Biophysica Acta* 1993;1163:243-249.
175. Barker RL, Gleich GJ, Pease LR: Acidic precursor revealed in human eosinophil granule major basic protein cDNA. *J Exp Med* 1988;168: 1493-1498.
176. Conroy MC, Adkinson NF Jr., Sobotka AK, Lichtenstein LM: "Releasability" of histamine from human basophils. *Fed Proc* 1977; 36:1216.
177. Salome CM, Peat JK, Britton WJ, Woolcock AJ: Bronchial hyperresponsiveness in two populations of Australian schoolchildren. I. Relation to respiratory symptoms and diagnosed asthma.

- Clin Allergy 1987;17:271-281.
- 178.Sears MR,Herbison GP,Holdaway MD,Hewitt CJ,Flannery EM,Silva PA:  
The relative risks of sensitivity to grass pollen,house dust mite and  
cat dander in the development of childhood asthma.  
Clin Exp Allergy 1990;65:489-495.
- 179.Verdiani P,DiCarlo S,Baronti A:Different prevalence and degree of  
nonspecific bronchial hyperreactivity between seasonal and perennial  
rhinitis.J Allergy Clin Immunol 1990;86:576-582.
- 180.Diaz P,Gonzalez MC,Galleguillos FR,Ancic P,Cromwell O,Shepherd D,  
Durham SR,Gleich GJ,Kay AB:Leukocytes and mediators in  
bronchoalveolar lavage during allergen-induced late-phase asthmatic  
reactions.Am Rev Respir Dis 1989;139:1383-1389.
- 181.Gleich GJ,Adolphson CR:The eosinophil leukocyte:Structure and  
function.Adv Immunol 1986;39:177-459.
- 182.Durham SR,Loegering DA,Dunnette S,Gleich GJ,Kay AB:Blood  
eosinophils and eosinophil-derived proteins in allergic asthma.  
J Allergy Clin Immunol 1989;84:931-936.
- 183.Bousquet J,Chanez P,Lacoste JY,Barneon G,Ghavanian N,Enander I,  
Venge P,Ahlstedt S,Simony-Lafontain J,Godard P,Michel F-B:  
Eosinophilic inflammation in asthma.N Engl J Med 1990;323:  
1033-1039.
- 184.Taylor KJ,Luksza AR:Peripheral blood eosinophil counts and bronchial  
responsiveness.Thorax 1987;42:452-456.